

# INSUSSISTENZA DEI PRESUPPOSTI PER L'OBBLIGO VACCINALE DI CUI AL COMMA 1, ART. 4 DL 44/2021

Revisione N. 3

Data di ultima revisione: 02/06/21

**Oggetto della revisione:** Correzione di bozza finale e prima emissione.

## Presentazione del Documento

Il presente fascicolo, predisposto dallo staff tecnico che si coordina nei gruppi di lavoro istituiti dall'Associazione Comilva Odv<sup>1</sup>, mira a costituire una solida base tecnica di confronto per il percorso di obiezione di coscienza all'obbligo vaccinale Covid-19, in particolare per la categoria degli operatori sanitari. Il documento ha carattere divulgativo ed è oggetto di continui aggiornamenti in virtù della produzione scientifica resa disponibile, pertanto vi invitiamo sempre a controllare la data di ultima revisione.

La data di revisione è sempre indicata di seguito in questa pagina, così come l'oggetto della revisione.

---

<sup>1</sup> **Contatti:** Associazione Comilva Odv, Sede legale: Corso d'Augusto 97, 47921 – Rimini (Italia). Sito internet [www.comilva.org](http://www.comilva.org); e-mail [info@comilva.org](mailto:info@comilva.org); PEC [comilva@pec.it](mailto:comilva@pec.it)

## Sommario

PARTE INTRODUTTIVA E SUGGERIMENTI METODOLOGICI .....	4
IL CONTESTO LAVORATIVO.....	4
ANAMNESI .....	4
COMPRESIONE della “Nota Informativa” allegata al “Modulo di consenso vaccinazione anti-covid-19” nonché dei documenti pubblici emessi dalle competenti autorità, ovvero le indicazioni contenute nel provvedimento di autorizzazione all'immissione in commercio .....	4
I FARMACI PFIZER E MODERNA PREVENGONO L'INFEZIONE DA SARS-CoV-2? SONO EFFICACI E SICURI? .....	7
PARTE PRIMA.....	14
I FARMACI PFIZER E MODERNA E LE ATTUALI CONOSCENZE SCIENTIFICHE .....	14
ARGOMENTI DI PREMESSA, NECESSARI .....	14
NATURA DEI FARMACI COMIRNATY E COVID-19 VACCINE MODERNA.....	15
EFFICACIA DEI FARMACI COMIRNATY E COVID-19 VACCINE MODERNA .....	16
SICUREZZA DEI FARMACI COMIRNATY E COVID-19 VACCINE MODERNA.....	19
IMPORTANTI RISCHI IDENTIFICATI, IMPORTANTI RISCHI POTENZIALI, INFORMAZIONI MANCANTI COME DA DOCUMENTAZIONE EPAR .....	20
PRECEDENTE POSITIVITÀ AL COVID-19: PROFILO DI SICUREZZA NON NOTO .....	20
PARTE SECONDA.....	22
RISCHI COLLEGATI ALLA POTENZIALE TOSSICITÀ DEI VACCINI.....	22
Il peccato antigenico originale.....	22
Soppressione legata all'epitopo .....	23
Il potenziamento dipendente dall'anticorpo.....	24
PARTE TERZA .....	27
RISCHI COLLEGATI ALL'AUTORIZZAZIONE ALL'IMMISSIONE IN COMMERCIO CONDIZIONATA (CMA, CONDITIONAL MARKETING APPROVAL) IN UN CONTESTO DI APPROVAZIONE IN EMERGENZA .....	27
RISCHI COLLEGATI ALLA MANCANZA DI VALUTAZIONE DEI RISCHI CONNESSI AI MEDICINALI CONTENENTI OGM O DA ESSI COSTITUITI (DEROGA DELLE DISPOSIZIONI DELLA DIRETTIVA OGM).....	35
RISCHI COLLEGATI ALLA MANCANZA DI STUDI DI FARMACOLOGIA DI SICUREZZA, GENOTOSSICITÀ E CANCEROGENICITÀ.....	35
PARTE QUARTA.....	37
SEGNALAZIONE DI SOSPETTE REAZIONI AVVERSE .....	37
PARTE QUINTA.....	43
BASSO RISCHIO DI MALATTIA DA CORONAVIRUS (COVID-19) TRA I PAZIENTI ESPOSTI A PERSONALE SANITARIO INFETTO .....	43
PARTE SESTA.....	47

CASE FATALITY RATE.....	47
CONCLUSIONI .....	51
ALLEGATO 1: PROTEINA SPIKE DEL VACCINO A MRNA, SINCITINE UMANE E SOPPRESSIONE DELLA FERTILITÀ .....	52
ALLEGATO 2: LA PROGENIE DEI VACCINATI DELL'ANNO 2021 POSSIEDE L'INFORMAZIONE EPIGENETICA PER ESPRIMERE IN MODO STABILE, CASUALE, TESSUTO-SPECIFICA, LA PROTEINA SPIKE VACCINALE? .....	59
ALLEGATO 3: LA PROTEINA SPIKE VACCINALE PUÒ PRODURRE DANNI CLINICI? .....	75
ALLEGATO 4: VACCINAZIONE IN PERSONE CON PREGRESSA INFEZIONE DA SARS-COV-2.....	77
ALLEGATO 5: ENDPOINT EFFICACIA.....	81
ALLEGATO 6: IMPORTANTI RISCHI IDENTIFICATI, IMPORTANTI RISCHI POTENZIALI, INFORMAZIONI MANCANTI COME DA DOCUMENTAZIONE EPAR.....	85
ALLEGATO 7: LA DENGUE ED IL VACCINO DENGVAXIA: UNA STORIA CHE SI RIPETE? .....	89

## PARTE INTRODUTTIVA E SUGGERIMENTI METODOLOGICI

### IL CONTESTO LAVORATIVO

*Descrivere innanzitutto, in maniera oggettiva, il proprio contesto lavorativo e soggettiva il proprio ruolo nel contesto lavorativo.*

#### *Alcuni spunti:*

Dichiaro di svolgere la mia attività come ... (*descrivere la propria attività/mansione*) ... presso (*indicare il luogo dove questa attività/mansione viene svolta*) ...

Seguo scrupolosamente le direttive sanitarie e le misure di precauzione in essere, previste dal DVR, relativamente al corretto utilizzo dei DPI, dei presidi di disinfezione ed igienizzazione degli ambienti di lavoro e della strumentazione, le procedure di distanziamento (*eventualmente, se libero professionista e titolare di studio*), la raccolta di informazioni preliminari atte ad escludere una possibile infezione in atto o un possibile contatto con persona infetta), al fine di scongiurare il rischio di contagio e diffusione del virus.

### ANAMNESI

*Descrivere in maniera dettagliata il vostro stato di salute (indicare anche l'età soprattutto se si appartiene alla fascia poco colpita da mortalità virus), i fatti di interesse medico riferiti a voi stessi e ai vostri familiari, ogni possibile dettaglio che possa rappresentare una controindicazione al trattamento proposto, se pertinente, l'esito di eventuali accertamenti ed esami previamente effettuati o in corso.*

COMPRESIONE della “Nota Informativa” allegata al “Modulo di consenso vaccinazione anti-covid-19” nonché dei documenti pubblici emessi dalle competenti autorità, ovvero le indicazioni contenute nel provvedimento di autorizzazione all'immissione in commercio

Ho appreso:

- dalla Circolare del Ministero della Salute prot. N° 12238-25/03/2021-DGPRES che, firmando apposito modulo, possa esprimere il mio consenso informato attraverso:
  - a. la comprensione della “Nota Informativa” allegata al “Modulo di consenso vaccinazione anti-covid-19” relativa ai vaccini per Sars-Cov2 attualmente disponibili e compresi nel piano vaccinale di cui all'articolo 1, comma 457, della legge 30 dicembre 2020, n. 178;
  - b. la comunicazione di episodi significativi nella mia storia clinica, di malattie presenti o pregresse, di eventuali terapie recenti o in corso;
  - c. la formulazione di domande pertinenti riguardo a possibili correlazioni tra il farmaco e il mio stato di salute, atte a chiarire ogni mio possibile dubbio o timore su fattori che possano mettere in pericolo la mia salute o anche solo peggiorare il mio stato di salute e le condizioni di rischio per la mia persona.
- Che, sempre sulla base della Circolare del Ministero della Salute prot. N° 12238-25/03/2021-DGPRES e alle dichiarazioni rese a mezzo stampa dal Presidente della FNOMCEO, dott. Anelli, “*le agenzie regolatorie dei farmaci, tra le quali EMA e AIFA, demandano la somministrazione dei vaccini alla prescrizione del medico. In questa fattispecie, la prescrizione è assolta con l'anamnesi, la valutazione clinica, la raccolta del consenso informato*”;
- Che, sulla base dell'art. 3 del decreto-legge del 1 aprile 2021, “*Per i fatti di cui agli articoli 589 e 590 del codice penale verificatisi a causa della somministrazione di un vaccino per la prevenzione delle infezioni da SARS-CoV -2, effettuata nel corso della campagna vaccinale straordinaria in attuazione del piano di cui all'articolo 1, comma 457, della legge 30 dicembre 2020, n. 178, la punibilità è esclusa quando l'uso del vaccino è conforme alle indicazioni contenute nel provvedimento di*

***autorizzazione all'immissione in commercio emesso dalle competenti autorità e alle circolari pubblicate sul sito istituzionale del Ministero della salute relative alle attività di vaccinazione***

(vedi punto 4 lettera a) e se il legislatore istituisce uno scudo penale si deve necessariamente dedurre che il rischio di incorrere in un reato di tali fattispecie è concreto e reale. Acquisire la massima conoscenza dei dati e delle informazioni contenute nella relazione pubblica (EPAR) e in tutti i documenti che accompagnano i provvedimenti di autorizzazione all'immissione in commercio dei farmaci prodotti da Pfizer-BioNTech e Moderna (somministrati al personale sanitario) per coloro che sono colpiti dall'obbligo vaccinale, pertanto, assume fondamentale importanza ai fini del Consenso Informato non solo al fine di ponderare con massima responsabilità e consapevolezza i rischi di un simile trattamento ma anche al fine di ottenere un adeguato risarcimento e indennizzo in caso di eventuale lesione.

- Che, sulla base del terzo *“Rapporto sulla Sorveglianza dei vaccini COVID-19”* pubblicato da AIFA, *“Sono stati, inoltre, segnalati casi fatali collegati alla problematica trombo-embolica, discussa nel focus dedicato disponibile nel presente rapporto. Le valutazioni dei casi corredati di informazioni dettagliate e complete suggeriscono l'assenza di responsabilità del vaccino nella maggior parte di questi, in quanto si tratta spesso di soggetti con patologie intercorrenti o pregresse e in politerapia, con fragilità cliniche, quali: malattie cardiovascolari (ipertensione arteriosa, pregressi IMA, scompenso cardiaco, cardiomiopia), malattie metaboliche (diabete, dislipidemia), malattie oncologiche, malattie autoimmuni, malattie neurodegenerative (malattia di Alzheimer), malattie respiratorie e mediastiniche (BPCO, enfisema), malattie renali, epatiche, pancreatiche, malattie del sistema linfopoietico (piastrinopenia, difetti coagulazione). Di conseguenza, sia la valutazione della causa di morte che l'attribuzione del nesso di causalità risultano complesse. Per tale motivo, ogni caso viene approfondito con accuratezza, richiedendo sempre al segnalatore di fornire ulteriori informazioni cliniche e diagnostiche in modo tempestivo (anamnesi clinica e farmacologica, cartella clinica, eventuali indagini effettuate e autopsia). Tuttavia, non è sempre possibile reperire questi dettagli e alcune schede di segnalazione riportano spesso lacune importanti che non si riescono a colmare in fase di follow up”*. Si evidenzia che nel terzo Rapporto di farmacovigilanza dei vaccini anti-Covid pubblicato da AIFA si riferisce di 100 decessi avvenuti dopo la vaccinazione. Va notato che soltanto 1 di questi decessi è stato correlato alla somministrazione del farmaco, mentre per i restanti 99 la mancata correlazione è giustificata con la motivazione che al momento della morte erano presenti patologie “pregresse” o “intercorrenti”. Da ciò si deve necessariamente dedurre che:
  - a. se una persona con tali patologie subisse un danno, non potrebbe sostenere che la causa sia riconducibile al vaccino;
  - b. le persone che presentano tali patologie pregresse o intercorrenti presentano un maggiore rischio di morire rispetto a chi non le ha.

Dichiaro:

- che ritengo lo strumento del consenso informato un elemento essenziale di civiltà giuridica e medica e di avere le competenze per valutare tecnicamente e scientificamente le informazioni contenute nella “Nota Informativa” allegata al “Modulo di consenso vaccinazione anti-covid-19”, nonché quelle riportate nei documenti pubblici emessi dalle competenti autorità, ovvero le indicazioni contenute nel provvedimento di autorizzazione all'immissione in commercio, nonché quelle provenienti dalle evidenze scientifiche.
- che sono a conoscenza del panorama normativo internazionale di Hard Law e Soft Law in riferimento alla ricerca e alla sperimentazione dei farmaci. Il primato della persona sull'interesse della società è un fondamento dell'etica della ricerca riconosciuto, ad esempio dalla Dichiarazione di Helsinki della World Medical Association (art. 8) e dalla Convenzione sui Diritti dell'Uomo e la Biomedicina del Consiglio d'Europa (art. 3). Tra i testi veri e propri di Hard Law spicca la

Convenzione sui Diritti dell'Uomo e la Biomedicina (cosiddetta Convenzione di Oviedo) del 1997 (CoE, 1997) alla quale anche l'Italia ha aderito sebbene risulti ancora da depositare lo strumento di ratifica approvato dal Parlamento sin dal 2001. Tra i testi che, pur nascendo nell'ambito delle Nazioni Unite, possono essere considerati di Soft Law, si evidenziano le due Dichiarazioni adottate dall'UNESCO (United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization): Dichiarazione sul Genoma Umano e i Diritti dell'Uomo (UNESCO, 1997) e Dichiarazione su Bioetica e Diritti Umani (UNESCO, 2005).

Vi sono poi fonti regolatorie maturate in sede scientifica e medica a partire dal cosiddetto Codice di Norimberga (NMT, 1946), che costituisce il precedente storico della Dichiarazione di Helsinki (WMA, 1964). Tale Dichiarazione della World Medical Association (WMA, Associazione Medica Mondiale), redatta per la prima volta ad Helsinki nel 1964 e successivamente sottoposta a varie revisioni e aggiornamenti fino all'ultima versione, approvata nel 2013 a Fortaleza, è il testo di riferimento etico-scientifico per la sperimentazione su esseri umani. A tali documenti si affiancano numerosi testi di diversa classificazione e valore regolatorio, come il noto "Belmont Report" (Belmont Report, 1979), di origine accademica ma di riconosciuto prestigio nel dibattito bioetico internazionale, e soprattutto le "International Ethical Guidelines for Health-related Research Involving Humans", elaborate dal Council for International Organizations of Medical Sciences (CIOMS, 2019) in collaborazione con OMS.

Vi sono principi ricorrenti in questi testi fra i quali: il già citato **primato del bene della persona sugli interessi della scienza e della società, la libertà di ricerca scientifica, la protezione della persona nella sua dignità e integrità, la massimizzazione di benefici e la minimizzazione di rischi, il rispetto per l'autonomia e il consenso informato, la protezione della privacy e della riservatezza dei dati personali, il rifiuto di ogni forma di discriminazione, la non-commercializzazione del corpo umano e delle sue parti, la protezione dell'integrità delle generazioni future, la revisione indipendente.**

Particolarmente rilevante è **l'espressione di disponibilità dell'individuo a partecipare allo studio che deve essere LIBERA e VONTARIA.** In Italia gli stessi principi trovano un riconoscimento giuridico di altissimo rango nelle disposizioni della Costituzione repubblicana, tra le quali possiamo specificamente richiamare: la libertà personale del volontario e del paziente (deducibile dal tenore generale degli art. 2 e art. 13 Cost.), l'uguaglianza e pari dignità di ogni essere umano (art. 3 Cost.), il diritto alla salute (art. 32 Cost.) che tutela espressamente la salute come "fondamentale diritto dell'individuo" e l'"interesse della collettività" non può spingersi oltre certi limiti nell'interferire con il diritto del singolo alla propria salute, la libertà della scienza (art. 33 Cost.).

Non ultimo, va evidenziato che **in data 27 gennaio 2021 l'Assemblea Permanente del Consiglio d'Europa ha votato la risoluzione 2361<sup>2</sup>** di cui si riportano i seguenti punti:

*"7.1.2. assicurare che gli enti regolatori incaricati di valutare e autorizzare i vaccini contro il Covid-19 siano indipendenti e protetti da pressioni politiche*

*7.1.3. assicurare che siano rispettati gli standard minimi di sicurezza, efficacia e qualità dei vaccini;*

*7.1.4. implementare sistemi efficaci per monitorare i vaccini e la loro sicurezza dopo la loro distribuzione alla popolazione generale, anche al fine di monitorare i loro effetti a lungo termine;*

*7.1.5. mettere in atto programmi indipendenti di risarcimento per i vaccini, al fine di garantire la compensazione di danni e lesioni indebite derivanti dalla vaccinazione;*

*(...)*

*7.3.1. assicurarsi che i cittadini siano informati che la vaccinazione non è obbligatoria e che nessuno subisca pressioni politiche, sociali o di altro tipo per essere vaccinato se non lo desidera;*

*7.3.2. assicurarsi che nessuno sia discriminato per non essere stato vaccinato, a causa di possibili rischi per la salute o per non voler essere vaccinato;"*

---

2

<https://pace.coe.int/pdf/74f621f624d2bf8b0c7ff4c269f1a8d493c90dce035b1fc030b116275eab9a2/resolution%202361.pdf>

## I FARMACI PFIZER E MODERNA PREVENGONO L'INFEZIONE DA SARS-CoV-2? SONO EFFICACI E SICURI?

Il legislatore, con un atto avente forza di legge, il D.L. n. 44/2021, pubblicato ed entrato in vigore data 1° aprile 2021, convertito successivamente in Legge 28 maggio 2021, n.76, ha introdotto l'obbligo vaccinale per gli esercenti le professioni sanitarie e gli operatori di interesse sanitario, con questa motivazione:

*“In considerazione della situazione di emergenza epidemiologica da SARS-CoV-2, fino alla completa attuazione del piano di cui all'articolo 1, comma 457, della legge 30 dicembre 2020, n. 178, e comunque non oltre il 31 dicembre 2021, al fine di tutelare la salute pubblica e mantenere adeguate condizioni di sicurezza nell'erogazione delle prestazioni di cura e assistenza, gli esercenti le professioni sanitarie e gli operatori di interesse sanitario che svolgono la loro attività nelle strutture sanitarie, sociosanitarie e socio-assistenziali, pubbliche e private, nelle farmacie, parafarmacie e negli studi professionali **sono obbligati a sottoporsi a vaccinazione gratuita per la prevenzione dell'infezione da SARS-CoV-2.** La vaccinazione costituisce requisito essenziale per l'esercizio della professione e per lo svolgimento delle prestazioni lavorative rese dai soggetti obbligati. La vaccinazione è somministrata nel rispetto delle indicazioni fornite dalle regioni, dalle province autonome e dalle altre autorità sanitarie competenti, in conformità alle previsioni contenute nel piano.”*

Dal testo della norma, si evince che la *ratio* è la tutela della salute pubblica e della sicurezza nell'erogazione delle prestazioni di cura ed assistenza. Ciò si otterrebbe somministrando al personale sanitario un farmaco in grado di **prevenire l'infezione da SARS-CoV-2**. È, altresì, implicito che questi farmaci di profilassi debbano possedere requisiti tali da risultare **sicuri ed efficaci in quanto vanno somministrati a soggetti non infetti e, nella maggioranza dei casi, sani**.

L'interpretazione della legge deve essere aderente il più possibile al testo letterale, così come costantemente ribadito dalla giurisprudenza di legittimità, v. tra le tante, le sentenze di:

- Cassazione civile, sezioni Unite, sentenza 4.2.2020, n. 2505;
- Consiglio di Stato, sezione quarta, sentenza del 9.11.2019, n. 7667;
- Tribunale Trieste, sezione prima, sentenza del 6.5.2019;
- Tribunale di Taranto, sezione seconda, sentenza del 25.07.2019;
- Corte d'Appello Roma, sezione seconda, sentenza del 19.06.2019;
- Cassazione civile, sezione quinta, sentenza del 23.07.2019;
- Tribunale di Milano, sezione prima, sentenza del 6.6.2019;
- Cassazione civile, sezioni unite, sentenza del 22.03.2019, n. 8230.

Perché si possa ottemperare all'obbligo previsto occorre che esista effettivamente un procedimento medico efficace nel prevenire l'infezione da SARS-CoV-2 nel personale sanitario per evitare che esso, nelle proprie attività di contatto con i pazienti, rischi di essere veicolo di contagio del virus.

Si noti che “infezione” non significa né è sinonimo di “malattia”, e che non è richiesto dal legislatore che il metodo previsto (“vaccinazione”) protegga gli operatori sanitari dalle **conseguenze** della “infezione”, ossia dalla malattia, ma è richiesto che prevenga l'infezione stessa e il contagio ad altri.

Semplicemente e perentoriamente si richiede che il personale interessato dal provvedimento non si possa “infettare”. E se non si previene l'infezione, chiaramente non si previene nemmeno la trasmissione del virus.

Il Dizionario di Medicina Treccani 2010 definisce infezione come un “*processo caratterizzato da penetrazione e moltiplicazione, nei tessuti viventi, di microrganismi patogeni*”.

Nel Foglio Illustrativo di Comirnaty<sup>3</sup> si legge: "Comirnaty è un vaccino utilizzato per la prevenzione di COVID-19, malattia causata dal virus SARS-CoV-2."

Nel RCP<sup>4</sup>, inoltre, si può leggere: "Il vaccino induce sia una risposta anticorpale neutralizzante che una risposta immunitaria cellulo-mediata verso l'antigene delle proteine spike (S), che **possono contribuire a proteggere contro COVID-19.**"

Similarmente, nel Foglio Illustrativo del vaccino Moderna<sup>5</sup> si legge: "COVID-19 Vaccine Moderna è un vaccino usato per prevenire COVID-19, malattia causata dal coronavirus SARS-CoV-2."

Nel RCP<sup>6</sup>, inoltre, si può leggere: "La proteina spike del SARS-CoV-2, espressa e legata alla membrana, viene quindi riconosciuta dalle cellule immunitarie come antigene estraneo. Ciò induce una risposta sia delle cellule T che delle cellule B che generano anticorpi neutralizzanti, i quali **possono contribuire alla protezione contro COVID-19.**"

Nel documento AIFA "Domande e risposte sui vaccini COVID-19" del 15 marzo 2021<sup>7</sup> al punto 2 e 4 di pag. 16 ed al punto 6 e 7 di pag. 17 si legge che:

- a. "non è ancora nota la durata della protezione fornita dai vaccini perché il periodo di osservazione è stato necessariamente di pochi mesi".
- b. "le persone vaccinate possono comunque trasmettere l'infezione"
- c. "i vaccini proteggono sole le persone vaccinate"

Il punto 11 della pag. 7 di tale documento tratta invece delle varianti in circolazione dicendo che: "sono in corso valutazioni sugli effetti che queste possono avere sulla pandemia e sull'efficacia della vaccinazione"

Nel documento AIFA del 28 aprile 2021<sup>8</sup>, vengono ribaditi questi concetti rilevando che la protezione fornita dai vaccini "non è definita con certezza ... ma la conoscenza su altri coronavirus suggerisce una protezione che dovrebbe durare almeno 9-12 mesi" (punto 3 pag. 2) ... questo documento conferma inoltre che "... studi sono in corso per capire se le persone vaccinate possono trasmettere il virus ad altre persone" (punto 4, pag. 2).

Infine, nel documento, AIFA conferma che ci "possono essere delle mutazioni del virus" e che "l'efficacia della protezione può essere più bassa" (punto 6 pag. 2)

Le stesse informazioni sono rilevabili nel Rapporto ISS COVID-19 n. 4/2021<sup>9</sup>, Indicazioni ad interim sulle misure di prevenzione e controllo delle infezioni da SARS-CoV-2 in tema di varianti e vaccinazione anti-COVID-19, Versione del 13 marzo 2021, a cura del Gruppo di Lavoro ISS Prevenzione e Controllo delle Infezioni, in collaborazione con il Ministero della Salute, AIFA e INAIL:

---

3

[https://farmaci.agenziafarmaco.gov.it/aifa/servlet/PdfDownloadServlet?pdfFileName=footer\\_005389\\_049269\\_FI.pdf&retry=0&sys=m0b1l3](https://farmaci.agenziafarmaco.gov.it/aifa/servlet/PdfDownloadServlet?pdfFileName=footer_005389_049269_FI.pdf&retry=0&sys=m0b1l3)

4

[https://farmaci.agenziafarmaco.gov.it/aifa/servlet/PdfDownloadServlet?pdfFileName=footer\\_005389\\_049269\\_RCP.pdf&retry=0&sys=m0b1l3](https://farmaci.agenziafarmaco.gov.it/aifa/servlet/PdfDownloadServlet?pdfFileName=footer_005389_049269_RCP.pdf&retry=0&sys=m0b1l3)

5

[https://farmaci.agenziafarmaco.gov.it/aifa/servlet/PdfDownloadServlet?pdfFileName=footer\\_005438\\_049283\\_FI.pdf&retry=0&sys=m0b1l3](https://farmaci.agenziafarmaco.gov.it/aifa/servlet/PdfDownloadServlet?pdfFileName=footer_005438_049283_FI.pdf&retry=0&sys=m0b1l3)

6

[https://farmaci.agenziafarmaco.gov.it/aifa/servlet/PdfDownloadServlet?pdfFileName=footer\\_005438\\_049283\\_RCP.pdf&retry=0&sys=m0b1l3](https://farmaci.agenziafarmaco.gov.it/aifa/servlet/PdfDownloadServlet?pdfFileName=footer_005438_049283_RCP.pdf&retry=0&sys=m0b1l3)

<sup>7</sup> v. Allegato "AIFA: Domande e risposte sui vaccini COVID-19 del 15 marzo 2021"

<sup>8</sup> v. Allegato "AIFA: Domande e risposte sui vaccini COVID-19 del 28 aprile 2021"

<sup>9</sup> [https://www.iss.it/documents/20126/0/Rapporto+ISS+COVID-19+n.+4\\_2021d.pdf/5ece92de-7793-5f04-4edb-26762a55b47b?t=1615996998754](https://www.iss.it/documents/20126/0/Rapporto+ISS+COVID-19+n.+4_2021d.pdf/5ece92de-7793-5f04-4edb-26762a55b47b?t=1615996998754)



*“Al momento sono tre i vaccini approvati dalla European Medicines Agency (EMA) e autorizzati dall’Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) nel nostro Paese. Tutti e tre i vaccini sono indicati per l’immunizzazione attiva per la prevenzione della malattia COVID-19 sintomatica ...”.*

*“Gli studi clinici condotti finora hanno permesso di dimostrare l’efficacia dei vaccini nella prevenzione delle forme clinicamente manifeste di COVID-19, anche se la protezione, come per molti altri vaccini, non è del 100%. Inoltre, non è ancora noto quanto i vaccini proteggano le persone vaccinate anche dall’acquisizione dell’infezione. È possibile, infatti, che la vaccinazione non protegga altrettanto bene nei confronti della malattia asintomatica (infezione) e che, quindi, i soggetti vaccinati possano ancora acquisire SARS-CoV-2, non presentare sintomi e trasmettere l’infezione ad altri soggetti. Ciononostante, è noto che la capacità di trasmissione da parte di soggetti asintomatici è inferiore rispetto a quella di soggetti con sintomi, in particolare se di tipo respiratorio.”*

*Riguardo alle varianti in circolazione: “Al momento ci sono dati piuttosto frammentari sulla capacità neutralizzante nei confronti delle VOC di sieri ottenuti dopo vaccinazione con i preparati al momento autorizzati.”*

A fronte di ciò – e considerando la gravità delle conseguenze per chi non potrà ottemperare all’obbligo di legge imposto con una decretazione d’urgenza e in mancanza di dibattito - **ci si aspetta una chiara evidenza scientifica della circostanza che i soggetti vaccinati non siano capaci di trasmettere l’infezione** e quindi siano in grado di proteggere i pazienti e soprattutto quelli definibili appartenere a “categorie fragili” non vaccinati e almeno per un lasso di tempo ragionevole. Su quest’ultimo punto, invece, si legge nel RCP di entrambi i farmaci che *“La durata della protezione offerta dal vaccino non è nota ed è ancora in fase di determinazione tramite studi clinici in corso”.*

Al riguardo, è la stessa Agenzia Italiana del Farmaco che comunica in modo ufficiale sul proprio sito web, nelle sezioni dedicate alle risposte alle domande più frequenti che non vi sono al momento evidenze scientifiche in grado di dimostrare che questi farmaci possano impedire la trasmissione dell’infezione<sup>10</sup>:

***Meccanismi d’azione e protezione dei vaccini Pfizer e Moderna***

...

*4. Le persone vaccinate posso trasmettere comunque l’infezione ad altre persone?*

***Gli studi clinici condotti finora hanno permesso di valutare l’efficacia dei vaccini mRNA sulle forme clinicamente manifeste di COVID-19, ma è necessario più tempo per ottenere dati significativi per dimostrare se i vaccinati si possono infettare in modo asintomatico e contagiare altre persone.***

*Sebbene sia plausibile che la vaccinazione protegga dall’infezione, i vaccinati e le persone che sono in contatto con loro devono continuare ad adottare le misure di protezione anti COVID-19.*

...

*6. I vaccini proteggono solo la persona vaccinata o anche i suoi familiari?*

***I vaccini proteggono la singola persona, ma se siamo in tanti a vaccinarci, potremmo ridurre in parte la circolazione del virus e quindi proteggere anche tutte le persone che non si possono vaccinare: la vaccinazione si fa per proteggere sé stessi, ma anche la comunità in cui viviamo.***

In altri termini, viene imposta una vaccinazione obbligatoria sulla base di una “plausibile” incapacità di trasmissione del virus da parte dei soggetti vaccinati.

Ma, attenzione, sebbene sia “plausibile” tale incapacità di trasmissione del virus, chi entra in contatto con la persona vaccinata deve comunque adottare le misure di protezione: prescrizione, quest’ultima, che rende evidente come sia altrettanto “plausibile” che essi siano comunque portatori di possibile contagio.

---

<sup>10</sup> <https://www.aifa.gov.it/domande-e-risposte-su-vaccini-mrna>

Non solo, quindi, manca l'evidenza scientifica della mancata trasmissione del virus da parte dei vaccinati: essa neppure è ritenuta "probabile", ma solo "plausibile" (ossia possibile, come molti fatti che, poi, in effetti, non si verificano) nella stessa misura in cui sia "plausibile" che siano comunque contagiosi.

In quale tipo di ordinamento è ammissibile una disposizione normativa che impone un trattamento sanitario per il fatto che sia "plausibile" trarne dei benefici per l'interesse pubblico? E peraltro attraverso la somministrazione di un farmaco dichiaratamente ancora in fase di studi?

La stessa ECDC nel documento del 21 aprile "Interim guidance on the benefits of full vaccination against COVID-19 for transmission and implications for non-pharmaceutical interventions"<sup>11</sup> afferma che "Il rischio di sviluppare la malattia grave da COVID-19 per un individuo non vaccinato che è stato in contatto con una persona completamente vaccinata esposta all'infezione da SARS-CoV-2 è da molto basso a basso negli adulti più giovani e negli adulti di mezza età senza fattori di rischio per la COVID-19 grave" (è noto che per questi soggetti il rischio di sviluppare la malattia grave e l'esito fatale è già molto basso di per sé, tanto è vero che il tasso di mortalità generale per questi soggetti risulta essere addirittura inferiore alla media degli ultimi 5 anni), e **moderato negli adulti più anziani o nelle persone con fattori di rischio sottostanti** (evidenza limitata disponibile finora), ovvero nelle "categorie fragili" che il decreto legge vorrebbe tutelare.

PERTANTO:

1. Venendo a mancare, per i vaccini attualmente disponibili in Italia, sia la rispondenza al requisito richiesto dal D.L. preso in esame (prevenzione dell'infezione), sia la rispondenza alla "ratio", che vorrebbe che i sanitari non siano in condizione di infettare alcuno e, in particolare, i soggetti fragili, il presupposto logico-giuridico dell'imposizione di una vaccinazione obbligatoria è necessariamente insussistente.
2. Appare incomprensibile come il decreto legge preso in esame, nell'affrontare il problema della "prevenzione dalla infezione", non utilizzi gli strumenti che tutte le Amministrazioni Sanitarie e i servizi di prevenzione e protezione delle aziende (SPP) impiegano già da anni, e cioè i metodi della **Analisi dei Rischi** con cui vengono redatti, ai sensi del D.L. 81/2008 (Testo Unico Salute e Sicurezza), i Documenti di Valutazione dei Rischi (DVR). Lo scopo che si pone il Legislatore, infatti, non è quello di proteggere l'interessato dalla malattia, bensì quello di ostacolarne il contagio.  
Da questo punto di vista, stupisce che il d.l. 44/2021 non abbia fatto il minimo cenno ai principi e ai criteri mutuati dalla medicina del lavoro e dalle scienze e tecniche di valutazione e gestione del rischio, con le quali ormai da anni le aziende pubbliche e private hanno preso dimestichezza dovendo procedere all'elaborazione del DVR previsto come obbligo per i datori di lavoro dal D. Lgs. 81/2008 (Testo Unico Salute e Sicurezza sul lavoro).  
Vi è inoltre da aggiungere che, fin dall'inizio della dichiarazione di epidemia, i datori di lavoro sono stati chiamati all'aggiornamento del DVR, in ragione del suo adeguamento alle misure di prevenzione da contagio SARS-CoV-2. Ad oggi, pertanto, bisogna necessariamente distinguere tra quelle realtà lavorative che, pur svolgendo attività *lato sensu* sanitarie, non contemplano nel loro DVR uno specifico rischio da agente biologico "Covid", e quelle che invece lo prevedono.  
In ordine alle prime si rileva come l'Ispettorato Nazionale del Lavoro le consideri, per quanto riguarda il Covid 19, come ambienti a mero rischio generico, per i quali cioè "il rischio non è riconducibile al titolo X del Dlgs 81/2008, non attendendo ordinariamente al ciclo produttivo aziendale" (Circolare INL n. 149 del 20.04.2020, allegato "Procedure Covid-19\_Istruzioni l'esecuzione dell'ispezione"). Per quanto riguarda le seconde, il cui DVR riporta una valutazione specifica da "rischio da agente biologico" da Covid, resteranno comunque da vagliare le misure di

---

<sup>11</sup> <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/interim-guidance-benefits-full-vaccination-against-covid-19-transmission>

prevenzione, le procedure di sicurezza e i D.P.I. in concreto adottati per l'abbattimento del rischio specifico. Ciò soprattutto in considerazione del fatto che in tali ambienti di lavoro si è investito in sicurezza proprio al fine di ricondurre il rischio, sulla base delle evidenze scientifiche mediche e di *risk management* sanitario, a livelli residuali, vale a dire a quello generico corrispondente al resto della popolazione, fin dai primi momenti dell'emergenza sanitaria.

A fronte di questo obbligo di vaccinazione, oltretutto, il rischio per vaccinati e non vaccinati risulta il medesimo:

1. *"Tutti i lavoratori, inclusi gli operatori sanitari, devono continuare a utilizzare rigorosamente i DPI, i dispositivi medici prescritti, l'igiene delle mani, il distanziamento fisico e le altre precauzioni secondo la valutazione del rischio, **indipendentemente dallo stato di vaccinazione e aderire a eventuali programmi di screening dell'infezione.**"*<sup>12</sup>

*"Questo è coerente con quanto ribadito dall'ECDC che riporta come, al momento, non vi siano prove sufficienti dell'effetto della vaccinazione sull'infezione asintomatica, e, quindi, sulla possibilità di trasmissione del virus da parte di soggetti vaccinati. Pertanto, **i lavoratori/operatori sanitari nonostante siano stati sottoposti a vaccinazione devono essere considerati potenzialmente in grado di infettarsi con SARS-CoV-2 e di trasmettere il virus ad altri**".*<sup>13</sup>

E per di più, nonostante sia possibile che i soggetti vaccinati possano ancora acquisire SARS-CoV-2, non presentare sintomi e trasmettere l'infezione ad altri soggetti,

2. *"Se una persona viene in contatto stretto con un caso positivo per SARS-CoV-2, secondo le definizioni previste dalle Circolari del Ministero della Salute, questa deve essere considerata un contatto stretto anche se vaccinata, e devono, pertanto, essere adottate tutte le disposizioni prescritte dalle Autorità sanitarie. **Si mantiene la deroga alla quarantena per il personale sanitario, con il rispetto delle misure di prevenzione e protezione dell'infezione, fino a un'eventuale positività ai test di monitoraggio per SARS-CoV-2 o alla comparsa di sintomatologia compatibile con COVID-19**".*<sup>14</sup>

Questa deroga può soltanto significare che **l'applicazione rigorosa delle misure di prevenzione e protezione dell'infezione in ambiente di lavoro sanitario siano ritenute adeguate a contenere il rischio di trasmissione da parte di eventuali positivi asintomatici vaccinati o non, fino a un'eventuale positività ai test di monitoraggio per SARS-CoV-2 o alla comparsa di sintomatologia compatibile con COVID-19.**

Appare, altresì, del tutto illogico e incomprensibile che non si stia facendo ogni sforzo per verificare, almeno negli ambienti sanitari, la reale efficacia e sicurezza di questi vaccini, predisponendo opportune indagini di verifica immunologica e progetti di farmacovigilanza attiva.

Ciò evidenzia una grave criticità in termini di proporzionalità: da una parte un obbligo per poter esercitare la professione, dall'altra una totale mancanza di serietà e chiarezza nel dimostrare la bontà di una simile coercizione. Il rationale dell'obbligo non solo non è supportato dalle evidenze, ma nulla fa presagire che potrà esserlo in futuro.

---

<sup>12</sup> <https://www.iss.it/covid19-faq/>, "I lavoratori vaccinati, inclusi gli operatori sanitari, devono mantenere l'uso dei DPI e dei dispositivi medici, l'igiene delle mani, il distanziamento fisico e le altre precauzioni sul luogo di lavoro?", v. anche Allegato "ISS "Speciale COVID-19 Vaccini – FAQ", ultimo accesso 6 maggio 2021. Le stesse indicazioni sono rilevabili nel Rapporto ISS COVID-19 n. 4/2021, versione del 13 marzo a cura del Gruppo di Lavoro ISS Prevenzione e Controllo delle Infezioni, in collaborazione con il Ministero della Salute, AIFA e INAIL.

<sup>13</sup> [https://www.iss.it/rapporti-covid-19/-/asset\\_publisher/btw1J82wtYzH/content/id/5659920](https://www.iss.it/rapporti-covid-19/-/asset_publisher/btw1J82wtYzH/content/id/5659920)

<sup>14</sup> <https://www.iss.it/covid19-faq/>, "Se una persona vaccinata con una o due dosi viene identificata come contatto stretto di un caso positivo, bisogna adottare le misure previste per i contatti stretti?", v. anche Allegato "ISS "Speciale COVID-19 Vaccini – FAQ", ultimo accesso 6 maggio 2021. Le stesse indicazioni sono rilevabili nel Rapporto ISS COVID-19 n. 4/2021, versione del 13 marzo a cura del Gruppo di Lavoro ISS Prevenzione e Controllo delle Infezioni, in collaborazione con il Ministero della Salute, AIFA e INAIL.

Ancor più va evidenziato che l'art. 32 della Costituzione tutela la salute sia come interesse collettivo sia come diritto individuale, attribuendo a quest'ultimo una duplice accezione: in senso "positivo", inteso come diritto a ricevere le prestazioni medico-assistenziali di cui si abbisogna, in senso "negativo", inteso come diritto a non ricevere cure, come libertà – consapevole ed informata – nelle cure.

Sul punto, è intervenuta la Corte Costituzionale, con la storica sentenza 23 giugno 1994, n. 258, ripresa da ultimo dalla **sentenza 18 gennaio 2018, n. 5**, individuando i requisiti necessari affinché l'obbligo vaccinale possa ritenersi compatibile con i dettami dell'art. 32 della Costituzione. In particolare, la Consulta si è così espressa: "Su questa linea si è ulteriormente precisato che la legge impositiva di un trattamento sanitario non è incompatibile con l'art. 32 della Costituzione:

- a. ***"se il trattamento sia diretto non solo a migliorare o a preservare lo stato di salute di chi vi è assoggettato, ma anche a preservare lo stato di salute degli altri, giacché è proprio tale ulteriore scopo, attinente alla salute come interesse della collettività, a giustificare la compressione di quella autodeterminazione dell'uomo che inerisce al diritto di ciascuno alla salute in quanto diritto fondamentale (cfr. sentenza 1990 n. 307);***
- b. ***se vi sia "la previsione che esso non incida negativamente sullo stato di salute di colui che vi è assoggettato, salvo che per quelle sole conseguenze, che, per la loro temporaneità e scarsa entità, appaiano normali di ogni intervento sanitario e, pertanto, tollerabili" (ivi);***
- c. ***se nell'ipotesi di danno ulteriore alla salute del soggetto sottoposto al trattamento obbligatorio – ivi compresa la malattia contratta per contagio causato da vaccinazione profilattica – sia prevista comunque la corresponsione di una "equa indennità" in favore del danneggiato (cfr. sentenza 307 cit. e v. ora legge n. 210/1992). E ciò a prescindere dalla parallela tutela risarcitoria, la quale "trova applicazione tutte le volte che le concrete forme di attuazione della legge impositiva del trattamento o di esecuzione materiale di esso non siano accompagnate dalle cautele o condotte secondo le modalità che lo stato delle conoscenze scientifiche e l'arte prescrivono in relazione alla sua natura" (sulla base dei titoli soggettivi di imputazione e con gli effetti risarcitori pieni previsti dall'art. 2043 c.c.: sentenza n. 307/1990 cit.)".***

Da una prima lettura, ciò che emerge è un'interpretazione dell'art. 32, Cost. che postula necessariamente il **contemperamento** da parte del legislatore, ispirato in primis al canone di proporzionalità, del diritto alla salute individuale, inteso anche nella sua accezione di "libera scelta delle cure", con il reciproco diritto degli altri alla salute nonché con l'interesse collettivo.

Con la **sentenza 23 giugno 1994, n. 258**, e successivamente con la **sentenza 18 gennaio 2018, n. 5**, la Corte Costituzionale affermando che *"l'autodeterminazione dell'individuo può essere limitata dall'obbligo vaccinale qualora il trattamento imposto sia diretto, oltreché a migliorare o a preservare la salute dello stesso, anche a preservare lo stato di salute degli altri"*, ha sostanzialmente affermato che la compromissione di un diritto fondamentale dell'individuo deve essere necessariamente controbilanciata da un vantaggio – proporzionale alla limitazione imposta – per l'interesse della collettività.

Nodale, dunque, risulta la **questione che riguarda l'idoneità del vaccino a prevenire l'infezione** e, per l'effetto, a limitare significativamente il contagio. Una risposta in senso affermativo, anche se non con una percentuale del 100%, ma comunque tale da rendere proporzionato il rapporto tra limite al diritto del singolo e beneficio dell'intera collettività, appare fondamentale ai fini di un vaglio positivo in termini di legittimità costituzionale della normativa in questione.

Sicché, allo stato dei fatti, **gli studi scientifici che sono stati elaborati non forniscono al riguardo una linea chiara e condivisa**, non dimostrano cioè se ed in quale misura il vaccino sia uno strumento idoneo a non contrarre il virus ed a non contagiare gli altri.

Sempre con la sentenza 23 giugno 1994, n. 258 (e con la nota sentenza 18 gennaio 2018, n. 5), la Corte costituzionale ha osservato che la compatibilità dell'obbligo vaccinale con l'art. 32 Cost. può essere altresì raggiunta allorquando ***“il trattamento imposto non incida negativamente sulla salute dell'individuo, fatte salve ovviamente quelle conseguenze che per entità e durata appaiono lievi e tollerabili”***.

Certamente, trattandosi di vaccini sperimentali, la scienza non è in grado ad oggi di potere individuare con certezza oppure in termini elevata probabilità tutti i possibili effetti collaterali consequenziali al vaccino. Tant'è vero che nella nota informativa che viene fornita al paziente prima di procedere alla somministrazione del vaccino è espressamente previsto che non è possibile al momento prevedere danni a lunga distanza. E i profili di sicurezza di questi farmaci sono in costante aggiornamento<sup>15</sup> sulla base della sorveglianza post marketing degli effetti avversi, nonché sulla base degli studi clinici di fase 4, nonché sulla base dello studio clinico tuttora in corso di fase 3.

Da ultimo, nelle sopracitate sentenze, la Corte Costituzionale ha osservato che in ordine alla responsabilità dello Stato per i danni cagionati dal vaccino, sarà dirimente da parte dello Stato **dimostrare di aver agito nel rispetto delle cautele che le attuali conoscenze scientifiche impongono.**

---

<sup>15</sup> <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/covid-19-vaccine-moderna#safety-updates-section>  
<https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/comirnaty#safety-updates-section>

## PARTE PRIMA

### I FARMACI PFIZER E MODERNA E LE ATTUALI CONOSCENZE SCIENTIFICHE

... *parte integrabile sulla base dell'Art. 3 bis introdotto nella conversione del decreto non ritenuta pertinente*

...

#### ARGOMENTI DI PREMESSA, NECESSARI

È doveroso sintetizzare alcuni punti che stanno alla base delle preoccupazioni più diffuse dei professionisti che operano nel campo della ricerca, e non solo.

Nell'articolo "SARS-Cov-2 e COVID-19, le più importanti domande sulla ricerca" pubblicato a marzo 2020 su Cell e Bioscience<sup>16</sup>, sono elencate le nove domande principali, riguardanti:

- la trasmissione del virus,
- la diffusione asintomatica e presintomatica,
- il trattamento,
- lo sviluppo di un possibile vaccino,
- l'origine del virus,
- la patogenesi virale.

**Ad oggi non esistono risposte a queste domande, ma solo supposizioni contraddittorie.** Per quanto riguarda possibili terapie e mezzi di prevenzione, si annota che dando come termine di ricerca "Coronavirus", l'archivio internazionale della ricerca scientifico-clinica Pubmed registra 20,772 pubblicazioni con la prima risalente al 1949<sup>17</sup>. Stando al 2020, dopo 70 anni, il consuntivo di tale imponente massa di lavoro si sintetizza in una sola parola: fallimento. **Fallimento per la ricerca scientifica e fallimento per la pratica clinica.**

Vale la pena ricordare alcuni numeri che troppo spesso dimentichiamo, vale a dire la mortalità nei paesi sviluppati dovuta a malattie legate al progresso è in costante crescita:

- **Cancro:** 9,6 milioni di decessi - anno 2018<sup>18</sup>;
- **Malattie cardiovascolari:** 17,6 milioni di decessi - anno 2016<sup>19</sup>;
- **Malattie autoimmuni:** circa il 10% della popolazione mondiale ne è affetta<sup>20</sup>.

Questa crescita è direttamente proporzionale con la crescita del fatturato dell'industria farmaceutica che ha attualmente raggiunto un valore complessivo mondiale di quasi 1.000 miliardi di Euro e che nel 2017, con una produzione di 31,2 miliardi di euro, in Italia ha raggiunto una posizione di primato all'interno dell'Unione Europea<sup>21</sup>.

---

<sup>16</sup> SARS-CoV-2 and COVID-19: The most important research questions

[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7074995/pdf/13578\\_2020\\_Article\\_404.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7074995/pdf/13578_2020_Article_404.pdf)

<sup>17</sup> Demonstration of an interference phenomenon associated with infectious bronchitis virus of chickens

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18151933/>

<sup>18</sup> Morti per cancro – 2018, [https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1)

<sup>19</sup> Cardiovascular diseases (CVDs), [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))

<sup>20</sup> Worldwide trends in all-cause mortality of auto-immune systemic diseases between 2001 and 2014,

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32234406/>

<sup>21</sup> I numeri dell'industria farmaceutica in Italia, [https://www.farindustria.it/app/uploads/2018/07/i-numeri-dellindustria-farmaceutica-in-italia\\_luglio\\_2018.pdf](https://www.farindustria.it/app/uploads/2018/07/i-numeri-dellindustria-farmaceutica-in-italia_luglio_2018.pdf)

## NATURA DEI FARMACI COMIRNATY E COVID-19 VACCINE MODERNA

Secondo la definizione fornita da AIFA i vaccini sono <sup>22</sup>: “*medicinali biologici che hanno lo scopo di prevenire una o più malattie infettive attraverso la stimolazione del sistema immunitario (produzione di anticorpi, attivazione di specifiche cellule) e la conseguente acquisizione della cosiddetta “immunità attiva”.*”

Le “sostanze attive” dei vaccini sono costituite da:

- *microrganismi (batteri o virus) opportunamente inattivati o uccisi in maniera tale da stimolare il sistema immunitario senza causare la malattia*
- *parti specifiche (antigeni) dei microrganismi che sono coinvolte direttamente nella risposta del sistema immunitario a quel patogeno*
- *sostanze prodotte dal microrganismo stesso (tossine) e coinvolte nel meccanismo con cui quel patogeno determina la malattia, rese sicure ed efficaci attraverso il processo di produzione del vaccino*

*In alcuni vaccini, queste componenti attive sono prodotte a partire da microrganismi diversi da quello che causa la malattia, per mezzo di specifiche biotecnologie.”*

EMA afferma che “*I medicinali biologici contengono principi attivi ricavati da una fonte biologica, come cellule o organismi viventi.*” <sup>23</sup>

Il principio attivo di Comirnaty è rappresentato da RNA messaggero (mRNA), *prodotto mediante trascrizione in vitro senza l’ausilio di cellule (cell-free) dai corrispondenti DNA stampo*, ossia una **molecola sintetica** che mima l’RNA virale al fine di ottenere un’azione sulle nostre cellule; in Comirnaty non vi è virus, né sue parti, neppure depotenziate o inattivate.

Il principio attivo di COVID-19 Vaccine Moderna è rappresentato da *RNA messaggero (mRNA) a singola elica con capping in 5’, prodotto mediante trascrizione in vitro senza l’ausilio di cellule (cell-free) dai corrispondenti DNA stampo, che codifica per la proteina virale spike (S) del SARS-CoV-2.*

Anche per questo farmaco si è in presenza di una molecola sintetica, tanto è vero che nel sito del titolare della licenza l’azienda paragona l’mRNA a un software, una “app”, affermando, altresì, di aver creato una piattaforma tecnologica mRNA che funziona in modo molto simile a un sistema operativo su un computer <sup>24</sup>.

È evidente, pertanto, che il tipo di ingegneria genetica utilizzata è stata finalizzata alla **realizzazione di un prodotto il cui principio attivo non produce immunità in quanto tale ma stimola le cellule umane** (sulla base di un “messaggio” composto da stringhe di lettere) **a produrre la proteina “estranea” di un patogeno - la Proteina Spike - che una volta riconosciuta fa attivare la produzione degli anticorpi di protezione e ciò dovrebbe contribuire a proteggere contro COVID-19.**

La natura di questi trattamenti farmacologici è, pertanto, ibrida: si tratta di una **terapia genica (farmaco OGM) con capacità di stimolare il sistema immunitario nella produzione di anticorpi** (come piccole fabbriche che producono Spike virali che poi innescano la risposta immunitaria) **contro una sequenza nucleotidica che non ha corrispondenza in nessuna delle sequenze umane finora conosciute e che presenta in sé importanti criticità in termini di tossicità.**

Fra le principali preoccupazioni meritano di essere segnalate:

- la proteina spike vaccinale e la soppressione della fertilità femminile (vedi ALLEGATO “PROTEINA SPIKE DEL VACCINO A MRNA, SINCITINE UMANE E SOPPRESSIONE DELLA FERTILITÀ”);
- la proteina spike vaccinale potrebbe causare danno neoplastico, infiammatorio, senescenza dei

---

<sup>22</sup> <https://www.aifa.gov.it/vaccini>

<sup>23</sup> [https://www.ema.europa.eu/en/documents/leaflet/biosimilars-eu-information-guide-healthcare-professionals\\_it.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/leaflet/biosimilars-eu-information-guide-healthcare-professionals_it.pdf)

<sup>24</sup> <https://www.modernatx.com/mrna-technology/mrna-platform-enabling-drug-discovery-development>



gameti maschili e infertilità nella prossima generazione (vedi ALLEGATO “LA PROGENIE DEI VACCINATI DELL’ANNO 2021 POSSIEDE L’INFORMAZIONE EPIGENETICA PER ESPRIMERE IN MODO STABILE, CASUALE, TESSUTO-SPECIFICA, LA PROTEINA SPIKE VACCINALE?”);

- la proteina spike vaccinale agente chiave potenziale che causa danni microvascolari a cervello, cuore, fegato e reni in un modo che attualmente non sembra essere valutato negli studi sulla sicurezza di questi farmaci (vedi ALLEGATO “LA PROTEINA SPIKE VACCINALE PUÒ PRODURRE DANNI CLINICI?”).

Va, altresì, evidenziato che la tecnologia mRNA trae origine per la cura dei tumori e non è mai stata impiegata in clinica se non con qualche eccezione con scarsi risultati in termini di efficacia e con problematiche di sicurezza <sup>25</sup>.

#### EFFICACIA DEI FARMACI COMIRNATY E COVID-19 VACCINE MODERNA

Consultando il Rapporto ISS COVID-19, n. 3/2021, “Aspetti di etica nella sperimentazione di vaccini anti-COVID-19” a cura del Gruppo di lavoro ISS Bioetica COVID-19 <sup>26</sup> si apprende che:

*“La scelta degli esiti in studio è stata ampiamente dibattuta insieme alla durata dell’osservazione necessaria ad intercettare le forme più gravi della malattia. In generale, gli endpoint degli studi di efficacia di Fase 3 valutano sia la protezione dall’infezione che dalla malattia, ottenuta attraverso immunità sia umorale (anticorpi specifici e neutralizzanti) che cellulare (linfociti T CD4+ e CD8+), in coorti che prevedano fasce d’età e caratteristiche di popolazione differenti (EMA, 2007). L’endpoint primario in ogni studio deve essere accuratamente selezionato in conformità con le indicazioni proposte. In uno studio clinico, **la variabile primaria** (variabile “target”, endpoint primario) **è quella in grado di fornire le prove cliniche più rilevanti direttamente correlate all’obiettivo primario dello studio, ed è quella utilizzata per stimare la dimensione del campione. La scelta dell’endpoint primario influenza oltre che la durata dello studio anche l’applicabilità futura dei risultati in una prospettiva di sanità pubblica.”***

È rilevante sottolineare ai fini del presente ATTO che **l’efficacia di questi farmaci è stata valutata** nel corso degli studi clinici che hanno permesso un’immissione al commercio condizionata (CMA) **in base**

---

<sup>25</sup> Nel 2017, l’azienda biotecnologica tedesca CureVac ha pubblicato i risultati su The Lancet (vedi <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28754494/>) per una sperimentazione di fase I del suo vaccino antirabbico mRNA e nel gennaio di quest’anno la società ha pubblicato i risultati tramite comunicato stampa (vedi <https://www.curevac.com/en/2020/01/07/curevac-announces-positive-results-in-low-dose-1-%C2%B5g-rabies-vaccine-clinical-phase-1-study/>) di uno studio di fase I del suo vaccino mRNA della rabbia a basso dosaggio.

Nel 2019, i ricercatori di Moderna e tedeschi hanno pubblicato i risultati di fase I di due vaccini a mRNA contro l’influenza (vedi <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X19305626>).

A gennaio 2020, Moderna ha annunciato i risultati del suo studio di fase I su un vaccino a mRNA contro il citomegalovirus (vedi <https://investors.modernatx.com/news-releases/news-release-details/moderna-announces-additional-positive-phase-1-data>), e proprio lo scorso aprile, mentre infuriava la pandemia, la società ha riportato dati provvisori dal suo vaccino a mRNA contro Zika (vedi <https://www.businesswire.com/news/home/20200414005276/en/Moderna-Highlights-Opportunity-mRNA-Vaccines-Vaccines-Day>).

In un articolo su Nature Reviews Drug Discovery (vedi <https://www.nature.com/articles/nrd.2017.243>), Drew Weissman, MD, PhD, dell’Università della Pennsylvania a Philadelphia e uno dei primi pionieri della tecnologia dell’mRNA, e colleghi hanno scritto che i primi risultati dei vaccini con mRNA contro la rabbia e l’influenza “*erano alquanto modesti, portando ad aspettative più caute sul passaggio dal successo preclinico alla clinica*”. Il team ha notato che in entrambi gli studi l’immunogenicità era “*più modesta negli esseri umani di quanto ci si aspettasse sulla base di modelli animali, un fenomeno osservato anche con i vaccini a base di DNA, e gli effetti collaterali non erano banali*”.

<sup>26</sup> [https://www.iss.it/documents/20126/0/Rapporto+ISS+COVID-19+3\\_2021.pdf/00fc6054-ded3-5de8-d32f-59bf69d73b02?t=1617348183776](https://www.iss.it/documents/20126/0/Rapporto+ISS+COVID-19+3_2021.pdf/00fc6054-ded3-5de8-d32f-59bf69d73b02?t=1617348183776)



**all'endpoint primario "riduzione della malattia sintomatica"** <sup>27</sup> omettendo ogni valutazione accurata in termini di immunità neutralizzante e alcuna valutazione in termini di immunità sterilizzante, ovvero circa la capacità di prevenire l'infezione e fermare la trasmissione del contagio, tanto è vero che *"la definizione di fallimento vaccinale deve essere ancora standardizzata per la malattia asintomatica alla luce degli studi autorizzativi mirati alla sola malattia COVID-19 in forma sintomatica"* <sup>28</sup>.

È doveroso, altresì, evidenziare che l'attuale scenario nazionale ed europeo è caratterizzato dalla emergenza di diverse varianti del virus:

*"La circolazione prolungata di SARS-Cov-2 e il meccanismo naturale di accumulo di errori durante la replicazione virale generano la comparsa di varianti virali di cui solo alcune destano preoccupazione per la salute pubblica (Variant Of Concern, VOC), essenzialmente per la presenza di mutazioni che possono conferire al virus SARS-CoV-2 un'augmentata capacità diffusiva, così come la potenziale resistenza a trattamenti terapeutici (es. anticorpi monoclonali) e **la capacità di eludere la risposta protettiva evocata dalla vaccinazione.**" (...)*

*"La vaccinazione anti-COVID-19 è efficace nella prevenzione della malattia sintomatica, ma la protezione non raggiunge mai il 100%. Inoltre, non è ancora noto se le persone vaccinate possano comunque acquisire l'infezione da SARS-CoV-2 ed eventualmente trasmetterla ad altri soggetti. Infine, è verosimile che alcune VOC possano eludere la risposta immunitaria evocata dalla vaccinazione, e, quindi, infettare i soggetti vaccinati."*

Nella Circolare del Ministero della Salute 31/01/2021 *"Aggiornamento sulla diffusione a livello globale delle nuove varianti SARS-CoV2, valutazione del rischio e misure di controllo"* <sup>29</sup> vengono forniti aggiornamenti sulla diffusione delle nuove varianti SARS-CoV-2 a livello globale, sulla valutazione del rischio e sulle misure di controllo raccomandate:

- Variante VOC 202012/01, Regno Unito: *"Sono in corso studi per valutare l'effetto di questa variante sull'efficacia vaccinale, che sembrerebbe limitatamente e non significativamente ridotta, sebbene siano **necessari ulteriori studi per ottenere risultati definitivi.**"*
- Variante 501Y.V2, Sudafrica: *"Non si conosce l'impatto di questa variante sull'efficacia dei test diagnostici. (...) Studi preliminari in vitro hanno evidenziato una **riduzione dell'attività***

---

<sup>27</sup> *"La valutazione dei probabili casi di COVID-19 è stata effettuata in seguito alla segnalazione da parte dei partecipanti allo studio di almeno **due segni / sintomi clinici sistemici o respiratori** riconosciuti predittivi di COVID-19 (predefinito) e successiva conferma di laboratorio dell'infezione di SARS-CoV-2 in tamponi nasali o campioni di saliva mediante RT-PCR." (...)* **"È probabile che il vaccino protegga anche contro il COVID-19 grave, sebbene questi eventi fossero limitati nello studio e la definizione di COVID-19 grave avrebbe potuto essere più rigorosa da un punto di vista clinico."** (v. EPAR Assessment Report COVID-19 Vaccine Moderna):

*"Al momento dell'analisi di efficacia primaria, i partecipanti erano stati seguiti per monitorare l'insorgenza di COVID-19 sintomatica per 2.214 persone/anno in totale nel gruppo trattato con vaccino a mRNA anti-COVID-19, e per 2.222 persone/anno in totale nel gruppo trattato con placebo." (...)* *"I casi confermati sono stati stabiliti utilizzando la tecnica della reazione a catena della polimerasi inversa (Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction, RT PCR), e in base alla **presenza di almeno 1 sintomo compatibile con COVID-19**, ovvero febbre, tosse di nuova insorgenza o aumentata, respiro affannoso di nuova insorgenza o peggiorato, brividi, dolore muscolare di nuova insorgenza o aumentato, perdita del gusto o dell'olfatto di nuova insorgenza, mal di gola, diarrea o vomito."* (...) **"Il vaccino protegge anche da COVID-19 grave, sebbene questi eventi fossero rari nello studio e non sia possibile trarre conclusioni statisticamente certe."** (v. EPAR Assessment Report Comirnaty).

<sup>28</sup> ht [https://www.iss.it/documents/20126/0/Rapporto+ISS+COVID-19+n.+4\\_2021d.pdf/5ece92de-7793-5f04-4edb-26762a55b47b?t=1615996998754](https://www.iss.it/documents/20126/0/Rapporto+ISS+COVID-19+n.+4_2021d.pdf/5ece92de-7793-5f04-4edb-26762a55b47b?t=1615996998754)

<sup>29</sup>

<https://www.trovanorme.salute.gov.it/norme/renderNormsanPdf?anno=2021&codLeg=78702&parte=1%20&serie=null>

**neutralizzante contro le varianti VOC SARS-CoV-2 nelle persone vaccinate con i vaccini Moderna o Pfizer-BioNTech rispetto alle varianti precedenti ma i dati per ora sono contrastanti.”**

- Variante P.1, Brasile: **“Non sono disponibili evidenze sulla gravità della malattia, sulla frequenza delle reinfezioni e sull’efficacia del vaccino.”**

Scrive l’ISS: **“In Italia al 15 aprile scorso la prevalenza della cosiddetta ‘variante inglese’ (B.1.1.7) del virus Sars-CoV-2 era del 91,6%, (in crescita rispetto all’86,7% del 18 marzo), con valori oscillanti tra le singole regioni tra il 77,8% e il 100%. Per quella ‘brasiliana’ (P.1) la prevalenza era del 4,5% (0%-18,3%, mentre era il 4,0% nella scorsa survey), mentre le altre monitorate sono sotto lo 0,5%, con un singolo caso della cosiddetta ‘variante indiana’ (B.1.617.2) e 11 di quella ‘nigeriana’ (B.1.525). La stima viene dalla nuova indagine rapida condotta dall’Iss e dal Ministero della Salute insieme ai laboratori regionali e alla Fondazione Bruno Kessler. L’indagine integra le attività di monitoraggio di routine, e non contiene quindi tutti i casi di varianti rilevate ma solo quelle relative alla giornata presa in considerazione.”**<sup>30</sup>

Si ricorda che **la scienza farmacologica è statistica e quantitativa.**

In estrema sintesi i risultati dei vaccini Pfizer e Moderna – in base alle dichiarazioni dei produttori – segnalano un’efficacia dei loro vaccini come riduzione del rischio relativo (cioè la differenza tra vaccinati e non vaccinati), NON una riduzione del rischio assoluto (cioè la riduzione del rischio di ammalarsi veramente per una singola persona che si vaccina). I risultati annunciati si riferiscono a covid-19 di qualsiasi gravità e **non alla capacità del vaccino di salvare vite umane, né alla capacità di prevenire l’infezione, né all’efficacia in sottogruppi importanti** (ad es. anziani fragili). Questi risultati, infine, riflettono un punto temporale relativamente precoce dopo la vaccinazione e al momento **non si conoscono le prestazioni dei vaccini in termini di efficacia nemmeno a 6 o 12 mesi.**

Nell’Assessment Report del vaccino Moderna<sup>31</sup> si legge: **“La principale lacuna dell’attuale serie di dati sull’efficacia è il follow-up insolitamente breve di circa 9 settimane”.**

È rilevante notare che fatti di cronaca, non circoscritti al nostro Paese, riferiscono di casi di reinfezione fra coloro che hanno completato il ciclo vaccinale. Antonio De Palma, presidente nazionale di Nursing Up, in una nota, denuncia: **“Apparentemente sembrerebbero cifre irrisorie ma in realtà ciò che ci preoccupa di più è la scarsa attenzione che le Regioni stanno dando a questi accadimenti. Si tratta come detto di infermieri che hanno ricevuto regolarmente la seconda dose del vaccino tra gennaio e febbraio”.** E continua: **“Le motivazioni dei contagi degli infermieri già vaccinati non possono essere semplicemente legate alla già nota non totale efficacia dei farmaci. Tutto questo non è sufficiente. Le Direzioni sanitarie fanno difficoltà a fornire informazioni ufficiali e questo ci lascia pensare, ancora una volta che siamo di fronte a quella superficialità che più volte abbiamo già pagato sulla nostra pelle durante questa emergenza sanitaria”.**<sup>32</sup>

Il SARS-Cov-2 è un virus simile come struttura e caratteristiche patologiche al SARS-Cov-1, responsabile dell’epidemia in Cina nel 2003. Contro tale virus sono stati sviluppati numerosi vaccini mai giunti alla commercializzazione per la scarsa efficacia e per le gravi reazioni immunopatologiche<sup>33</sup>. Era già noto quindi da tempo al momento della segnalazione dei primi casi di COVID-19 che i virus della SARS sono agenti infettivi caratterizzati da una instabilità genetica che determina la comparsa di quasispecie, cioè di un’ampia popolazione di mutanti molto simili tra loro, che competono nel corso dell’epidemia e si modificano, già nell’organismo del contagiato.

La presenza di quasispecie virali è ritenuta responsabile della impossibilità di produrre un vaccino efficace e, nel caso di vaccini attenuati, della reversione in nuovi mutanti virulenti. Per questo anche i vaccini contro

<sup>30</sup> [https://www.iss.it/web/guest/primopiano/-/asset\\_publisher/3f4alMwzN1Z7/content/id/5714341](https://www.iss.it/web/guest/primopiano/-/asset_publisher/3f4alMwzN1Z7/content/id/5714341)

<sup>31</sup> [https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/covid-19-vaccine-moderna-epar-public-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/covid-19-vaccine-moderna-epar-public-assessment-report_en.pdf)

<sup>32</sup> <https://www.agi.it/cronaca/news/2021-05-05/allarme-operatori-sanitari-vaccinati-ricontagiano-covid-12428834/>

<sup>33</sup> SARS vaccines: where are we? [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7105754/pdf/IERV\\_4\\_11218665.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7105754/pdf/IERV_4_11218665.pdf)

il SARS-Cov-2, sia biotecnologici che attenuati o inattivati, presenteranno questa criticità che è alla base della inefficacia della vaccinazione.

Nel caso dei coronavirus SARS-Cov-1<sup>34</sup> e SARS-Cov-2<sup>35</sup> la letteratura conferma la formazione di popolazioni di mutanti e la difficoltà, se non l'impossibilità, di ottenere un vaccino efficace a sufficienza da proteggere la popolazione nel corso di un'epidemia su larga scala<sup>36</sup>. L'immunità di gregge vaccinale è quindi un mero parametro teorico senza alcun riscontro reale, perché all'aumentare della copertura vaccinale aumenta più rapidamente la spinta selettiva delle popolazioni mutanti verso forme più resistenti ai vaccini stessi, rendendo inutile la vaccinazione e, aumentando la selezione di mutanti addirittura più patogenici.

Per quanto riguarda invece l'uso di vaccini ingegnerizzati costruiti a partire dalle sequenze depositate in banche dati (in genere, dalle sequenze conservate della proteina spike), la problematica della presenza delle quasispecie è ancora più marcata e critica per l'efficacia, e porterà al risultato che gran parte della popolazione mondiale sarà comunque suscettibile alla reinfezione e alle sue conseguenze negative anche fatali. [Vedi Allegato 5, ENDPPOINT EFFICACIA]

#### SICUREZZA DEI FARMACI COMIRNATY E COVID-19 VACCINE MODERNA

Consultando il Rapporto ISS COVID-19, n. 3/2021, "Aspetti di etica nella sperimentazione di vaccini anti-COVID-19" a cura del Gruppo di lavoro ISS Bioetica COVID-19<sup>37</sup> si evince che:

*"Le valutazioni della sicurezza durante lo sviluppo clinico di un vaccino includono il monitoraggio delle reazioni avverse attese locali e sistemiche (reattogenicità) e degli eventi avversi inattesi (EMA, 1995). I dati sulla sicurezza sono raccolti dopo ogni dose di vaccino e lungo tutto il periodo di follow-up dopo la somministrazione dell'ultima dose, periodo che dovrebbe essere di almeno 1 anno (meglio se 2 anni), per poter identificare eventi che si potrebbero presentare a lungo termine (EMA, 2020a; FDA, 2020a)."*

**Il profilo di sicurezza dei vaccini anti-COVID-19 è stato definito sulla base di un follow-up di appena qualche mese e su un campione di volontari non rappresentativo del mondo reale.**

Nella "Scheda Informativa per gli operatori sanitari che somministrano il vaccino" Pfizer- BioNTech<sup>38</sup>, FDA riporta un avviso fondamentale:

---

<sup>34</sup> Infidelity of SARS-CoV Nsp14-exonuclease mutant virus replication is revealed by complete genome sequencing, <https://www.vumc.org/denison-lab/publication/infidelity-sars-cov-nsp14-exonuclease-mutant-virus-replication-revealed-complete-genome>

Coronaviruses: an RNA proofreading machine regulates replication fidelity and diversity

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21593585/>

The large 386-nt deletion in SARS-associated coronavirus: evidence for quasispecies?

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16941348/>

<sup>35</sup> SARS transmission pattern in Singapore reassessed by viral sequence variation analysis

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15736999/>

SARS-CoV-2 exhibits intra-host genomic plasticity and low-frequency polymorphic quasispecies

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32818852/>

Molecular characterization of SARS-CoV-2 in the first COVID-19 cluster in France reveals an amino acid deletion in nsp2 (Asp268del)

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7142683/>

Comparative Domain-Fold Analysis of the SARS-CoV-2 ORF1ab Polyprotein: Insight into Co-Evolution, Conservation of Folding Patterns, Potential Therapeutic Strategies, and the Possibility of Reemergence

<https://www.preprints.org/manuscript/202004.0286/v1>

<sup>36</sup> The double-edged sword: How evolution can make or break a live-attenuated virus vaccine

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3314307/>

<sup>37</sup> [https://www.iss.it/documents/20126/0/Rapporto+ISS+COVID-19+3\\_2021.pdf/00fc6054-ded3-5de8-d32f-59bf69d73b02?t=1617348183776](https://www.iss.it/documents/20126/0/Rapporto+ISS+COVID-19+3_2021.pdf/00fc6054-ded3-5de8-d32f-59bf69d73b02?t=1617348183776)

<sup>38</sup> <https://www.fda.gov/media/144413/download>

***“Sono state segnalate gravi reazioni allergiche a seguito del vaccino Pfizer-BioNTech COVID-19 durante la vaccinazione di massa al di fuori degli studi clinici. Ulteriori reazioni avverse, alcune delle quali possono essere gravi, possono diventare evidenti con un uso più diffuso del vaccino Pfizer-BioNTech COVID-19 Vaccine.”***

IMPORTANTI RISCHI IDENTIFICATI, IMPORTANTI RISCHI POTENZIALI, INFORMAZIONI MANCANTI COME DA DOCUMENTAZIONE EPAR

Nei documenti che compongono la relazione pubblica di valutazione europea (EPAR) di questi farmaci e in particolare nel *Risk Management Plan*<sup>39</sup>, si apprende, inoltre, che **il profilo di sicurezza non è noto nelle donne in gravidanza o in allattamento, negli individui immunocompromessi, negli individui fragili con comorbilità, negli individui con disturbi autoimmuni o infiammatori, perché o esclusi dai trial o presenti in numero limitato**. Così come non è nota la sicurezza a lungo termine.

Si apprende altresì che il **rischio anafilassi per ipersensibilità al principio attivo o ad uno qualsiasi degli eccipienti** contenuti nel vaccino viene evidenziato come un **importante rischio identificato** e il rischio di **Vaccine-Associated Enhanced Disease (VAED)**<sup>40</sup>, inclusa la **Vaccine-Associated Enhanced Respiratory Disease (VAERD)**, **rappresenta un importante rischio potenziale**, ovvero, questi vaccini presentano un rischio di potenziamento della malattia da cui si vuole proteggere il vaccinato, che può portare anche alle complicazioni fatali<sup>41</sup>.

PRECEDENTE POSITIVITÀ AL COVID-19: PROFILO DI SICUREZZA NON NOTO

Va rilevato che anche **il profilo di sicurezza per gli individui con una precedente positività al COVID-19 non è noto**, in quanto tali soggetti sono stati esclusi dai trial clinici<sup>42</sup>.

Per espressa indicazione di AIFA, come è possibile leggere nelle FAQ “Vaccinazione anti COVID-19 con vaccino Pfizer mRNA BNT162b2 (Comirnaty)” nell’aggiornamento del 4 gennaio 2021, **“coloro che hanno avuto una diagnosi di positività a COVID-19 non necessitano di una vaccinazione nella prima fase della campagna vaccinale, mentre potrebbe essere considerata quando si otterranno dati sulla durata della protezione immunitaria.”**<sup>43</sup>

*«A sottolineare l'importanza di questo sottogruppo di “guariti Covid” è proprio Massimo Galli: “Nessun dato scientifico sostiene la immediata necessità e la sicurezza del vaccino nel loro caso. Nei guariti non va quindi praticato almeno fino a che non ne sapremo di più. Per rendere le cose comode e non porci il problema di*

---

<sup>39</sup> V. Risk Management Plan Comirnaty, [https://www.ema.europa.eu/en/documents/rmp-summary/comirnaty-epar-risk-management-plan\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/rmp-summary/comirnaty-epar-risk-management-plan_en.pdf); v. Risk Management Plan COVID-19 Vaccine Moderna, [https://www.ema.europa.eu/en/documents/rmp-summary/covid-19-vaccine-moderna-epar-risk-management-plan\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/rmp-summary/covid-19-vaccine-moderna-epar-risk-management-plan_en.pdf)

<sup>40</sup> Non esiste una definizione uniformemente accettata di VAED o VAERD. I termini correlati utilizzati di frequente includono "malattia potenziata mediata dal vaccino (VMED)", "malattia respiratoria potenziata (ERD)", "potenziamento dell'infezione indotta dal vaccino", "potenziamento della malattia", "potenziamento delle difese immunitarie" e "potenziamento degli anticorpi dipendenti (ADE)".

Ciò potrebbe rendere problematica la comparabilità dei dati tra gli studi o dei dati raccolti attraverso i sistemi di sorveglianza se non viene utilizzata una definizione coerente dei casi. vedi [https://brightoncollaboration.us/wp-content/uploads/2020/10/JVAC-S-20-02520\\_mzd.pdf](https://brightoncollaboration.us/wp-content/uploads/2020/10/JVAC-S-20-02520_mzd.pdf)

<sup>41</sup> *Is antibody-dependent enhancement playing a role in COVID-19 pathogenesis?*

<https://smw.ch/article/doi/smw.2020.20249>

<sup>42</sup> <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT04368728>

<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT04470427>

<sup>43</sup> vedi domanda-risposta AIFA n.18 ([https://www.aifa.gov.it/documents/20142/1279946/FAQ-Vaccinazione\\_anti\\_COVID-19\\_con\\_vaccino\\_Pfizer.pdf/ea9099cd-c71c-d443-e447-6da60137da37](https://www.aifa.gov.it/documents/20142/1279946/FAQ-Vaccinazione_anti_COVID-19_con_vaccino_Pfizer.pdf/ea9099cd-c71c-d443-e447-6da60137da37))

*“Chi ha già avuto un’infezione da Covid-19, confermata, deve o può vaccinarsi?”*

capire chi si sta vaccinando, (se è già stato infettato oppure no), facciamo dei disastri”, rileva il Fatto Quotidiano lo scorso gennaio <sup>44</sup>.

Ma a distanza di pochi mesi le indicazioni di AIFA sono sostanzialmente cambiate <sup>45</sup>:

*“Chi ha già avuto un’infezione da COVID-19, confermata con test molecolare, può vaccinarsi? Le persone che hanno avuto un’infezione da SARS-CoV-2 confermata da test molecolare (o antigenico di terza generazione), sia con sintomi sia senza sintomi, riceveranno un’unica dose di vaccino somministrata dopo almeno 3 mesi, ma non oltre 6 mesi dall’infezione. Al contrario, riceveranno le due dosi, se si tratta di persone immunocompromesse o che seguono una terapia immunosoppressiva. Si sottolinea l’inutilità di test sierologici o molecolari prima e dopo la vaccinazione.”*

Sono state colmate le carenze conoscitive sull'argomento?

Dopo il primo anno della pandemia di SARS-CoV-2, possiamo constatare che milioni di persone sono state contagiate e non si riscontra un’epidemia di reinfezioni. Questa osservazione non può che suggerire che l’infezione da SARS-CoV-2 conferisce una robusta immunità.

Nel bilanciamento individuale di rischi/benefici, si deve tener conto che un problema particolare riguarda il rischio di iper-immunizzazione e/o reazioni allergiche che potrebbe correre un individuo già immune se fosse rivaccinato; a ciò si aggiunge il fatto che un recente studio <sup>46</sup> ha mostrato come una precedente infezione da SARS-CoV-2 sia associata a un aumento dell’8% del rischio di effetti collaterali dopo la prima dose del vaccino. È stato osservato un significativo aumento di febbre, dispnea (difficoltà respiratoria), sindrome simil-influenzale, astenia, dolori locali e “altro”; inoltre nei pazienti con precedente infezione, questi sintomi si sono manifestati in maniera più grave.

Il riscontro più importante è stato però il fatto che la pregressa infezione si è mostrata associata al rischio di sviluppare reazioni avverse gravi che hanno richiesto l’ospedalizzazione.

Gli autori concludono sottolineando come questo studio per la prima volta mostri una significativa associazione tra precedente infezione da Covid-19 e aumento della frequenza e della gravità delle reazioni avverse post vaccinali.

---

<sup>44</sup> <https://www.ilfattoquotidiano.it/2021/01/18/covid-vaccinare-dopo-gli-altri-chi-e-stato-gia-malato-il-nodo-della-durata-degli-anticorpi-sarebbe-saggio-no-troppo-rischioso/6067851>

<sup>45</sup> [https://www.aifa.gov.it/documents/20142/1297852/domande\\_risposte\\_vaccini\\_COVID.pdf](https://www.aifa.gov.it/documents/20142/1297852/domande_risposte_vaccini_COVID.pdf)

<sup>46</sup> Mathioudakis A.G., Ghrew M., Ustianowski A., Ahmad S., Borrow R., Papavasileiou L.P., Petrakis D. and Bakerly N.D. Self-Reported Real-World Safety and Reactogenicity of COVID-19 Vaccines: A Vaccine Recipient Survey, *Life* 2021, 11, 249



## PARTE SECONDA

### RISCHI COLLEGATI ALLA POTENZIALE TOSSICITÀ DEI VACCINI

Per quanto riguarda la potenziale tossicità sono da segnalare due meccanismi immunopatologici principali:

- Il peccato antigenico originale (original antigenic sin) <sup>47</sup>;
- la soppressione legata all'epitopo (linked-epitope suppression) <sup>48</sup>;

Questo meccanismo si può riassumere in maniera molto essenziale così:

Quando il vaccinato si infetta con un mutante del virus selvatico diverso rispetto all'antigene vaccinale, il suo sistema immunitario adattativo risponde in maniera non specifica e debole, perché programmato per rispondere in maniera efficace solo all'antigene vaccinale. Ciò comporta che il virus continua a replicarsi nel vaccinato portando ad un'infezione cronica con il rischio di sviluppare uno stato infiammatorio-autoimmune a lungo termine e recidive dell'infezione in forma atipica e resistente ai trattamenti farmacologici, oppure può innescare un'eccessiva reazione infiammatoria (tempesta di citochine) con conseguenze particolarmente pericolose per il vaccinato.

#### Il peccato antigenico originale

Negli anni '40, Francis e colleghi osservarono che quando venivano somministrati vaccini contro l'influenza A a bambini e adulti più anziani, la risposta anticorpale non corrispondeva all'antigene influenzale vaccinale. Piuttosto, sembrava dipendere dall'età dei destinatari, ogni gruppo rispondeva con anticorpi che reagivano meglio con il sottotipo di virus che avevano sperimentato per primi nella loro vita. In pratica, le persone vaccinate contro un ceppo influenzale avevano prodotto anticorpi con un titolo più elevato contro un diverso ceppo influenzale che era stata la loro prima esperienza dell'influenza durante l'infanzia, anche se quel ceppo era assente nel vaccino. Il fenomeno è stato chiamato "peccato antigenico originale" ed è anche noto come effetto Hoskins. Numerosi studi suggeriscono che la presenza di sequenze peptidiche simili tra i due virus (vaccinali e della reinfezione) portano all'attivazione delle cellule della memoria ma con una risposta mirata agli antigeni della risposta primaria, con conseguente fallimento vaccinale <sup>49</sup>.

---

<sup>47</sup> *Original Antigenic Sin Response to RNA Viruses and Antiviral Immunity*

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5086450/>

*Inter-Pathogen Peptide Sharing and the Original Antigenic Sin: Solving a Paradox*

<https://benthamopen.com/ABSTRACT/TOIJ-8-16>

*Peptide cross-reactivity: the original sin of vaccines*

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22652881/>

*Original antigenic sin: A comprehensive review*

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28479213/>

*Original Antigenic Sin: How Original? How Sinful?*

<http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/content/early/2020/01/18/cshperspect.a038786.abstract>

*What Is Wrong with Pertussis Vaccine Immunity? Inducing and Recalling Vaccine-Specific Immunity*

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28289058/>

<sup>48</sup> *The 112-Year Odyssey of Pertussis and Pertussis Vaccines-Mistakes Made and Implications for the Future*

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30793754/>

*Antibody Response Patterns to Bordetella pertussis Antigens in Vaccinated (Primed) and Unvaccinated (Unprimed)*

*Young Children with Pertussis,*

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2863370/>

<sup>49</sup> *Peptide cross-reactivity: the original sin of vaccines*

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22652881/>

*Inter-Pathogen Peptide Sharing and the Original Antigenic Sin: Solving a Paradox*

<https://benthamopen.com/ABSTRACT/TOIJ-8-16>

*Fisiopatologia delle infezioni*

Il meccanismo del "peccato antigenico originale" si verifica quando il corpo viene nuovamente esposto a un patogeno leggermente evoluto o diverso.

In questo caso, a causa della precedente esposizione al primo antigene, i linfociti della memoria non rispondono alla variante dell'antigene stesso, ma interpretano e rispondono al secondo antigene come se fosse l'antigene originale. Quando il secondo antigene è sufficientemente diverso dall'antigene originale, la risposta del sistema immunitario al secondo antigene è meno precisa, e di conseguenza meno efficace per eliminare il patogeno. Nella situazione più estrema, il riconoscimento dell'agente patogeno da parte del sistema immunitario può essere compromesso al punto da portare ad una completa evasione dell'agente patogeno dalla risposta immunitaria, con conseguenze mortali.

#### Soppressione legata all'epitopo

Il meccanismo della soppressione legata all'epitopo è sostanzialmente diverso come concetto da quello del peccato antigenico originale, in quanto ipotizza che il sistema immunitario sia inibito/soppresso nella risposta all'agente infettivo dagli antigeni originali presenti nel vaccino e quindi non potrebbe essere utilizzato come termine equivalente. In realtà, come si vede nel caso della tossina tetanica ACT il sistema immunitario rimane perfettamente funzionante ma viene "programmato" a rispondere permanentemente agli antigeni originali, quelli presenti nel vaccino, pertanto si tratta di un reale danno da vaccino e una formulazione diversa di vaccino non permette di superarlo.

È sostanziale a questo punto portare ad esempio il caso della pertosse.

La pertosse è causata principalmente dal coccobacillo Gram-negativo *Bordetella pertussis*, ed è una grave malattia respiratoria che può essere pericolosa per la vita, specialmente nei bambini piccoli. Recentemente ha avuto un ritorno spettacolare in paesi ad alta copertura vaccinale, come gli Stati Uniti, l'Australia e molti paesi europei. Sebbene una tendenza verso una maggiore incidenza della pertosse fosse già visibile prima del passaggio dai vaccini a cellule intere a quelli acellulari, è stato proprio con l'introduzione dei vaccini acellulari che il numero di casi ha raggiunto livelli record.

La tossina della pertosse (PT) e la tossina dell'adenilato ciclasi (ACT) sono due importanti fattori di virulenza della *Bordetella pertussis*; in particolare la tossina ACT si forma quando il batterio si lega all'epitelio bronchiale in vivo e quindi difficilmente può essere ottenuta da linee cellulari in quantità sufficienti per produrre un antigene vaccinale<sup>50</sup>.

Durante lo sviluppo dei vaccini acellulari della pertosse (aP), la PT è stata scelta come antigene principale. La sua preparazione ha richiesto la detossificazione per la quale erano disponibili due opzioni negli anni '80: la detossificazione chimica con formaldeide dopo la sua produzione o la modificazione genetica dei ceppi di *Bordetella pertussis* che producono la PT detossificata geneticamente. I vaccini aP attualmente autorizzati includono la PT detossificata chimicamente che comporta la denaturazione delle proteine e quindi potenziali alterazioni della struttura tridimensionale.

Uno studio che ha utilizzato anticorpi monoclonali competitivi ha dimostrato che questo processo di denaturazione genera epitopi distinti da quelli presenti sulla PT originaria, pertanto, l'attivazione della risposta immunitaria da parte del primo vaccino seguito da richiami ripetuti con la PT detossificata chimicamente probabilmente genera cellule effettrici e di memoria B che sono sempre più specifiche per il vaccino e sempre meno competenti a legarsi alla PT nativa strutturalmente distinta.

Le differenze tra antigeni naturali e vaccini possono anche derivare da un cambiamento nel fenotipo dei ceppi di pertosse (cioè dalla comparsa di nuovi mutanti resistenti), tuttavia, la mancanza di espressione della pertactina (PRN) non ha influenzato l'efficacia del vaccino.

---

[http://amsacta.unibo.it/3437/18/17\\_fisiopatologia\\_delle\\_infezioni\\_II\\_ed\\_ebook.pdf](http://amsacta.unibo.it/3437/18/17_fisiopatologia_delle_infezioni_II_ed_ebook.pdf)

<sup>50</sup> *Pertussis toxin and adenylate cyclase toxin: key virulence factors of Bordetella pertussis and cell biology tools*  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20210554/>

Ne segue quindi che la denaturazione chimica della PT (peccato "chimico" originale), che riduce ulteriormente la già modesta immunogenicità del vaccino, è principalmente responsabile della ulteriore perdita della risposta immunitaria ai richiami vaccinali.

L'immunità creata da un vaccino acellulare è priva di anticorpi diretti contro l'ACT perchè non è presente tra gli antigeni detossificati (i tre tossoidi della pertosse normalmente presenti nei vaccini in commercio sono: Tossoido pertossico (PT), Emoagglutinina filamentosa (FHA), Pertactina (PRN)) e l'immunità dal vecchio vaccino a cellule intere ha mostrato livelli di anticorpi ACT trascurabili rispetto a quelli prodotti in seguito ad un'infezione naturale.

Quindi, quando una persona vaccinata contrae di nuovo la pertosse non esiste una difesa pregressa contro l'ACT che impedisca ai batteri di infettare le cellule. Dopo un vaccino in cui non è presente l'ACT, il sistema immunitario non è più in grado di rispondere alla tossina in futuro, perché rimane "programmato" nei confronti del primo contatto avvenuto con il contenuto del vaccino e non con i batteri infettivi.

In un challenge test in vivo sugli animali si è visto che in seguito alla reinfezione, chi aveva contratto già la malattia e aveva prodotto anticorpi protettivi non veniva colonizzato dai batteri, chi non l'aveva mai contratta impiegava circa 30 giorni per eliminarli, chi invece era stato vaccinato con vaccino acellulare li eliminava completamente dopo 35 giorni.

Ciò significa che chi era stato vaccinato, pur non presentando i sintomi della malattia infettiva, o presentandoli in forma atipica, era in grado di infettare i suoi contatti come chi sviluppava la malattia per la prima volta.

Ne segue che la ricomparsa della pertosse in popolazioni altamente vaccinate in particolare con il vaccino aP, non è imputabile ad una scarsa efficacia del vaccino ma ad una programmazione errata del sistema immunitario causata dal vaccino stesso, e tantomeno è dovuto alla presenza tra la popolazione di persone mai vaccinate immunizzate naturalmente alla malattia <sup>51</sup>.

Il potenziamento dipendente dall'anticorpo

Il secondo meccanismo di tossicità è il potenziamento dipendente dall'anticorpo, in corso di studio per il coronavirus SARS-Cov-2 <sup>52</sup>, ma studiato in maniera più approfondita anche per il SARS-Cov-1 <sup>53</sup>, la MERS <sup>54</sup>,

---

<sup>51</sup> *Malattie, vaccini e la storia dimenticata (dissolving illusions). Epidemie, contagi, infezioni. Cos'è cambiato davvero in Occidente negli ultimi due secoli:* <https://www.ibs.it/malattie-vaccini-storia-dimenticata-dissolving-ebook-roman-bystryany-suzanne-humphries/e/9788865802052>

*Acellular pertussis vaccines protect against disease but fail to prevent infection and transmission in a nonhuman primate model:* <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24277828/>

<sup>52</sup> *The potential danger of suboptimal antibody responses in COVID-19:* <https://www.nature.com/articles/s41577-020-0321-6>

*Is antibody-dependent enhancement playing a role in COVID-19 pathogenesis?*  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32298458/>

*Medical Countermeasures Analysis of 2019-nCoV and Vaccine Risks for Antibody-Dependent Enhancement (ADE):*  
<https://www.preprints.org/manuscript/202003.0138/v1>

<sup>53</sup> *Antibody-dependent enhancement of SARS coronavirus infection and its role in the pathogenesis of SARS:*  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27390007/>

*SARS CoV subunit vaccine: antibody-mediated neutralisation and enhancement:*  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22311359/>

*Anti-severe acute respiratory syndrome coronavirus spike antibodies trigger infection of human immune cells via a pH- and cysteine protease-independent FcγR pathway:* <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21775467/>

*Antibody-dependent SARS coronavirus infection is mediated by antibodies against spike proteins:*  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7092860/>

<sup>54</sup> *Molecular Mechanism for Antibody-Dependent Enhancement of Coronavirus Entry:*  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31826992/>



la Dengue <sup>55</sup>, lo Zika virus <sup>56</sup>, l'Ebola <sup>57</sup>, L'HIV <sup>58</sup> e l'influenza stagionale <sup>59</sup>.

Il meccanismo del potenziamento dipendente dall'anticorpo è piuttosto complesso, ma si può riassumere in questo modo: quando un soggetto che possiede un livello anticorpale sub-ottimale (in seguito ad un'infezione primaria o a vaccinazione) viene a contatto con un virus simile e si infetta, il suo sistema immunitario favorisce l'infezione e le complicazioni fatali della malattia.

In altre parole, una parte dei vaccinati sono predisposti dalla vaccinazione proprio a manifestare le complicazioni gravi e fatali della malattia dalla quale si vogliono proteggere.

Ironia della sorte, la conseguenza del potenziamento dipendente dall'anticorpo è che la risposta del sistema immunitario peggiora in realtà i sintomi clinici e aumenta il rischio delle complicazioni gravi <sup>60</sup>.

Come è successo con altri virus, il potenziamento della malattia indotta da vaccino è una preoccupazione anche per lo sviluppo di un vaccino contro il SARS-CoV-2 e con gli attuali dati disponibili a supporto della potenziale correlazione tra ADE e anticorpi preesistenti SARS-CoV-2, è indispensabile procedere con ulteriori studi critici per affrontare e comprendere accuratamente questo problema nell'uomo. Sono numerosi i fattori che determinano se un anticorpo neutralizza un virus e protegge l'ospite o provoca ADE e infiammazione acuta.

Questi includono la specificità, la concentrazione, l'affinità e l'isotipo dell'anticorpo. I vaccini virali vettoriali che codificano la proteina SARS-CoV Spike (S) e la proteina del nucleocapside (N) provocano, rispettivamente, IgG anti-S e anti-N nei topi immunizzati in misura simile. Tuttavia, dopo un nuovo challenge, i topi immunizzati con proteina N mostrano una significativa sovraregolazione della secrezione di citochine pro-infiammatorie, aumento dell'infiltrazione polmonare di neutrofili ed eosinofili e patologia polmonare più grave.

Allo stesso modo, gli anticorpi che colpiscono epitopi diversi sulla proteina S possono variare nel loro potenziale di indurre neutralizzazione o ADE. Dati in vitro suggeriscono che per le cellule che esprimono FcR, l'ADE si verifica quando l'anticorpo è presente a bassa concentrazione ma si attenua nell'intervallo ad alta concentrazione.

Ne segue quindi che è di fondamentale importanza verificare se nel vaccinando o in seguito la vaccinazione sono presenti anticorpi non neutralizzanti in bassa concentrazione perchè possono predisporre all'insorgenza dell'ADE e alle sue conseguenze fatali <sup>61</sup>.

---

<sup>55</sup> *Antibody-Dependent Enhancement of Severe Disease Is Mediated by Serum Viral Load in Pediatric Dengue Virus Infections*: <https://academic.oup.com/jid/article-abstract/221/11/1846/5814648?redirectedFrom=fulltext>  
*Dengue Antibody-Dependent Enhancement: Knowns and Unknowns*: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26104444/>  
*Antibody-dependent enhancement of severe dengue disease in humans*: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29097492/>

<sup>56</sup> *Complex Scenario of Homotypic and Heterotypic Zika Virus Immune Enhancement*:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31481385/>

<sup>57</sup> *Antibody-Dependent Enhancement of Ebola Virus Infection by Human Antibodies Isolated from Survivors*:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30110637/>

<sup>58</sup> *Could vaccination with AIDSVAX immunogens have resulted in antibody-dependent enhancement of HIV infection in human subjects?:* <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25483466/>

<sup>59</sup> *Antibody-dependent enhancement of influenza disease promoted by increase in hemagglutinin stem flexibility and virus fusion kinetics:* <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25483466/>

<sup>60</sup> *Host Response to the Dengue Virus:* <https://www.nature.com/scitable/topicpage/host-response-to-the-dengue-virus-22402106/>

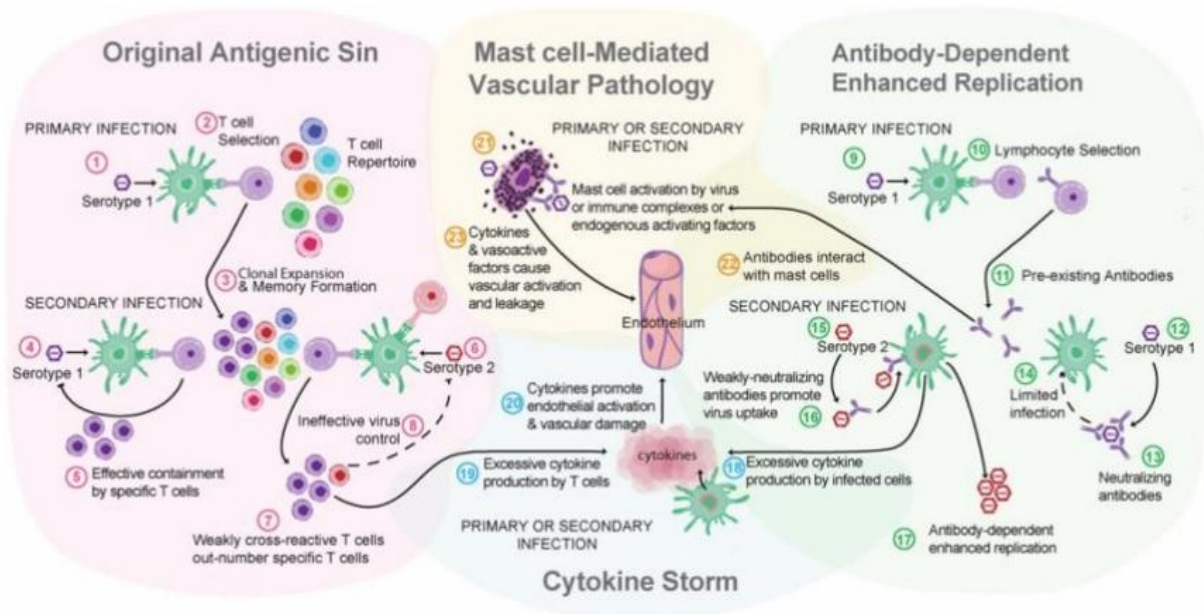
<sup>61</sup> *Determination of antibody concentration as the main parameter in a dengue virus antibody-dependent enhancement assay using FcγR-expressing BHK cells*

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23900750/>

*Dengue virus infection-enhancing activity in serum samples with neutralizing activity as determined by using FcγR-expressing cells*

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22389741/>

Per concludere si aggiunge una figura che mostra i tre meccanismi immunopatologici principali che possono essere scatenati dalla vaccinazione contro il SARS-Cov-2<sup>62</sup>.



**Fig. 1:** i tre meccanismi immunopatologici principali che possono essere scatenati dalla vaccinazione contro il SARS-Cov-2

[Vedi Allegato 7, LA DENGUE ED IL VACCINO DENGVAIXIA: UNA STORIA CHE SI RIPETE?]

*Dengue virus isolation relying on antibody-dependent enhancement mechanism using FcγR-expressing BHK cells and a monoclonal antibody with infection-enhancing capacity*

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21824813/>

<sup>62</sup> *Influence of Mast Cells on Dengue Protective Immunity and Immune Pathology*

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3868513/>

Fonte Immagine meccanismi immunopatologici principali

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3868513/pdf/ppat.1003783.pdf>

## PARTE TERZA

### RISCHI COLLEGATI ALL'AUTORIZZAZIONE ALL'IMMISSIONE IN COMMERCIO CONDIZIONATA (CMA, CONDITIONAL MARKETING APPROVAL) IN UN CONTESTO DI APPROVAZIONE IN EMERGENZA

I vaccini anti-covid-19 vengono utilizzati in Italia attraverso la procedura di autorizzazione all'immissione in commercio condizionata (CMA, Conditional Marketing Approval)<sup>63</sup>, concepita per consentire l'autorizzazione all'immissione in commercio il più rapidamente possibile, non appena disponibili dati sufficienti presentati dallo sviluppatore del "vaccino" nel corso delle "revisioni a rotazione"<sup>64</sup>.

Il richiedente potrà presentare dati aggiuntivi anche dopo l'autorizzazione all'immissione in commercio, contrariamente ad una normale autorizzazione all'immissione in commercio in cui tutti i dati sono presentati prima del rilascio dell'autorizzazione.

Una volta ottenuta l'autorizzazione, il vaccino può essere commercializzato ovunque nell'UE.

Il CMA (Conditional Marketing Approval) è valido per un anno, su base rinnovabile.

L'Autorizzazione è subordinata alla presentazione, entro un periodo di tempo definito e a determinate scadenze, di ulteriori dati a supporto e consolidamento delle evidenze di efficacia e sicurezza (Specific Obligations - SOs), derivanti sia da studi ancora in corso al momento dell'autorizzazione per acquisire i risultati finali anche su nuovi endpoint, sia dando avvio a nuovi studi.

Va rilevato che **vaccini basati su tecnologia mRNA, fino a oggi, NON sono mai stati oggetto di licenza da parte delle Autorità regolatorie e pertanto NON sono mai stati testati in condizioni reali e su vasta scala.**

Gli USA, invece, hanno optato per un'autorizzazione all'uso d'emergenza (EUA)<sup>65</sup> che consente l'uso temporaneo del vaccino, che rimane tuttavia privo di licenza, ossia non approvato e non immesso in commercio, contrariamente a quanto previsto da un'autorizzazione all'immissione in commercio (condizionata).

*"In una situazione di autorizzazione d'emergenza (EUA) per l'utilizzo di un vaccino, per quanto sia possibile date le circostanze, la FDA deve garantire che **i destinatari di tale vaccino (autorizzato per l'uso in emergenza) siano accuratamente informati del fatto che il farmaco è soggetto a questo tipo di autorizzazione, dei benefici e dei rischi noti e potenziali, della misura in cui tali benefici e rischi sono sconosciuti, del fatto che sia possibile accettare o rifiutare il vaccino, e di qualsiasi alternativa disponibile al prodotto.**"*

---

<sup>63</sup> Il richiedente potrà presentare dati aggiuntivi anche dopo l'autorizzazione all'immissione in commercio, contrariamente ad una normale autorizzazione all'immissione in commercio in cui tutti i dati sono presentati prima del rilascio dell'autorizzazione.

Il CMA (Conditional Marketing Approval) è valido per un anno, su base rinnovabile. L'Autorizzazione è subordinata alla presentazione, entro un periodo di tempo definito e a determinate scadenze, di ulteriori dati a supporto e consolidamento delle evidenze di efficacia e sicurezza (Specific Obligations - SOS), derivanti sia da studi ancora in corso al momento dell'autorizzazione per acquisire i risultati finali anche su nuovi endpoint, sia dando avvio a nuovi studi. La licenza può essere **convertita** in standard marketing authorization successivamente alla presentazione dei dati richiesti.

<sup>64</sup> Le "revisioni a rotazione" consentono a EMA di valutare i dati non appena disponibili, invece di attendere la conclusione di tutte le sperimentazioni. Attraverso le revisioni a rotazione EMA valuta i dati mentre lo sviluppo è ancora in corso e prima che lo sviluppatore del vaccino presenti una richiesta di autorizzazione all'immissione in commercio.

<sup>65</sup> <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/vaccines/emergency-use-authorization-vaccines-explained>

Il Financial Times <sup>66</sup> è venuto a conoscenza di un promemoria diffuso ai membri da Vaccines Europe, una divisione della Federazione Europea delle Industrie e delle Associazioni Farmaceutiche (European Federation of Pharmaceutical Industries and Associations, EFPIA <sup>67</sup>) e ne riporta uno stralcio:

**"La velocità e la portata dello sviluppo e del lancio impediscono di produrre la stessa quantità di evidenze fondamentali che normalmente sarebbero disponibili attraverso studi clinici estesi nel tempo e attraverso l'esperienza degli operatori sanitari"**.

Nel documento si afferma che **ciò crea rischi "inevitabili" e che va sostenuto un "sistema di indennizzo totalmente privo di responsabilità e di contraddittorio oltre all'esenzione da responsabilità civile"** <sup>68</sup>.

Le industrie hanno operato una pressione enorme sulle agenzie e sui governi affinché i tempi per l'autorizzazione fossero il più possibile accelerati e per avere facilitazioni per la produzione di vaccini su larga scala <sup>69</sup>, però sappiamo bene che la produzione fatta secondo le buone pratiche di fabbricazione (GMP) implicano ingenti costi per le materie prime di alta qualità, per i controlli qualità sul prodotto ... e più dosi si producono e più è difficile garantire la qualità di un prodotto farmaceutico.

Come è possibile garantire, lavorando a tale velocità di ricerca clinica e produzione, prima di tutto la qualità del vaccino (requisito base per poter essere messo in commercio) e poi la sicurezza e l'efficacia (requisiti base per poter essere somministrati su tutta la popolazione) - fasi che richiedono tempi molto lunghi e protocolli molto rigorosi di studio - laddove tutto il mondo scientifico e clinico non è riuscito a definire un vaccino efficace per l'HIV e per tantissime altre infezioni come la Dengue, il citomegalovirus, o la malaria?

Le seguenti Specific Obligations riportare nell'Assesment report del vaccino Pfizer-BioNTech sono state ottemperate e con quali risultati?

Nel contesto dell'autorizzazione all'immissione in commercio condizionata, il richiedente deve adempiere ai seguenti obblighi specifici (OS):

- SO1: per completare la **caratterizzazione della sostanza attiva e del prodotto finito**, il titolare dell'autorizzazione all'immissione in commercio deve fornire dati aggiuntivi. Scadenza: luglio 2021. Rapporti intermedi: marzo 2021.
- SO2: al fine di garantire una **qualità costante del prodotto**, il titolare dell'autorizzazione all'immissione in commercio dovrebbe fornire ulteriori informazioni per **migliorare la strategia di controllo**, comprese la sostanza attiva e le specifiche del prodotto finito. Scadenza: luglio 2021. Rapporti intermedi: marzo 2021.
- SO3: al fine di **confermare la coerenza del processo di fabbricazione del prodotto finito**, il titolare dell'autorizzazione all'immissione in commercio dovrebbe fornire ulteriori dati di convalida. Data di scadenza: marzo 2021.

---

<sup>66</sup> <https://www.ft.com/content/12f7da5b-92c8-4050-bcea-e726b75eef4d>

<sup>67</sup> "EFPIA è il principale gruppo di lobby di Big Pharma in Europa, che gode di un ampio accesso e influenza sul processo decisionale dell'UE, alimentato dalla sua spesa di lobby fino a 5,5 milioni di euro nel 2020, che coinvolge 25 lobbisti (una spesa maggiore rispetto ai 4,6 milioni di euro del 2019).

(...)

Alla riunione del dicembre 2020, l'EFPIA ha elencato un gran numero di aziende coinvolte nella ricerca e nello sviluppo, con "1100 potenziali trattamenti e vaccini", e ha sostenuto che tutto è in buone mani private."

v. <https://corporateeurope.org/en/2021/04/big-pharma-lobbys-self-serving-claims-block-global-access-vaccines>

<sup>68</sup> L'europarlamentare Stefania Zambelli lo scorso novembre ha presentato una Interrogazione con richiesta di risposta scritta alla Commissione ([https://www.europarl.europa.eu/doceo/document/E-9-2020-006302\\_IT.pdf](https://www.europarl.europa.eu/doceo/document/E-9-2020-006302_IT.pdf)) rilevando che i contratti conclusi con le case farmaceutiche sono stati secretati dalla Commissione Europea e non se ne conosce l'entità economica, né si conoscono i prezzi dei vaccini, le tempistiche stimate per la produzione e distribuzione e le clausole di responsabilità applicate, né tantomeno l'identità dei negozianti, chiedendo il motivo di tale segretezza.

<sup>69</sup> 7 COVID-19: Coronavirus Vaccine Makers Ask Government's Help to Make Millions of Doses by September 20  
<https://www.techtimes.com/articles/248972/20200420/covid-19-update-coronavirus-vaccine-makers-asks-governments-help-to-make-millions-of-doses-by-september.htm>

- SO4: al fine di **confermare il profilo di purezza e garantire un controllo di qualità completo e la coerenza da lotto a lotto durante tutto il ciclo di vita del prodotto finito**, il titolare dell'autorizzazione all'immissione in commercio deve fornire **ulteriori informazioni sul processo sintetico e sulla strategia di controllo per l'eccipiente ALC-0315**. Scadenza: luglio 2021, rapporti intermedi: gennaio 2021, aprile 2021.
- SO5: al fine di confermare il profilo di purezza e garantire un controllo di qualità completo e la coerenza da lotto a lotto durante tutto il ciclo di vita del prodotto finito, il titolare dell'autorizzazione all'immissione in commercio deve fornire **ulteriori informazioni sul processo sintetico e sulla strategia di controllo per l'eccipiente ALC-0159**. Scadenza: luglio 2021, rapporti intermedi: gennaio 2021, aprile 2021.

**Per quanto riguarda SO1**, sono richiesti i seguenti dati per completare le informazioni sulla sostanza attiva e sulla caratterizzazione del prodotto finito.

- a. Devono essere forniti dati aggiuntivi per caratterizzare ulteriormente le **specie di mRNA troncato e modificato presenti nel prodotto finito**. I dati dovrebbero riguardare i lotti utilizzati negli studi clinici (per i quali i dati di caratterizzazione potrebbero essere disponibili prima) e i lotti PPQ. Questi dati dovrebbero riguardare i risultati dell'accoppiamento ionico RP-HPLC che affronta i livelli di 5'cap e la presenza della coda di poli (A). Questi dati dovrebbero affrontare ulteriormente il potenziale di traduzione in proteine/peptidi S1S2 troncati o altre proteine/peptidi. **Devono essere forniti dati rilevanti sulla caratterizzazione di proteine/peptidi per le specie predominanti. Deve essere valutata qualsiasi omologia tra proteine tradotte (diverse dalla proteina spike prevista) e proteine umane che possono, a causa del mimetismo molecolare, causare potenzialmente un processo autoimmune.** Scadenza: luglio 2021. Rapporti intermedi: marzo 2021 e su base mensile.
- b. **L'analisi del picco principale del test di integrità dell'RNA che rappresenta l'RNA a lunghezza intera**, dovrebbe essere intrapresa anche affrontando i livelli di 5'cap e la presenza della coda di poli (A). Scadenza: luglio 2021. Rapporto intermedio: marzo 2021
- c. Devono essere forniti dati aggiuntivi per la sostanza attiva per confermare l'identità delle bande Western Blot (WB) osservate ottenute dal test di espressione in vitro. Si presume che l'eterogeneità delle proteine, che si traduce in bande larghe sul WB e incertezze sul peso molecolare intatto teorico della proteina spike, sia dovuta alla glicosilazione. Pertanto, **per confermare ulteriormente le identità delle proteine**, deve essere eseguita la deglicosilazione enzimatica delle proteine espresse seguita dall'analisi del WB. Dovrebbe essere dimostrata la correlazione con i pesi molecolari calcolati della proteina S1S2 intatta. Scadenza: luglio 2021. Rapporto intermedio: marzo 2021

**Per quanto riguarda l'SO2**, è necessario fornire i seguenti dati al fine di garantire una strategia di controllo globale, comprese le specifiche della sostanza attiva e del prodotto finito:

- a. **I limiti di accettazione delle specifiche del principio attivo e del prodotto finito devono essere rivalutati e rivisti**, se del caso, man mano che ulteriori dati diventano disponibili dalle sperimentazioni cliniche in corso e in linea con la capacità del processo di fabbricazione e i dati di stabilità del prodotto. Devono essere forniti dati completi comprendenti analisi dei lotti di un numero adeguato di lotti commerciali nonché analisi dei lotti che sono stati utilizzati nelle sperimentazioni cliniche (in corso). Scadenza: luglio 2021, rapporti intermedi marzo 2021 e su base mensile.
- b. **La lunghezza della coda del poli (A) è considerata un attributo critico, che dovrebbe essere controllato su ogni lotto, anche se finora sono stati ottenuti risultati comparabili**. Dovrebbe essere introdotta una specifica della sostanza attiva per controllare la lunghezza del poli (A). Dovrebbe essere sviluppato un metodo adeguato e dovrebbero essere stabiliti criteri di accettazione appropriati.

Scadenza: luglio 2021,

Rapporti intermedi: marzo 2021

- c. **La percentuale della coda di poli (A) è considerata un attributo critico, permangono incertezze sull'idoneità del metodo.** Devono essere forniti dati aggiuntivi a sostegno dell'idoneità del metodo utilizzato per la % poly (A) tail oppure è necessario sviluppare e introdurre un saggio alternativo adatto. La coda% poli (A) deve essere caratterizzata in seguito a qualsiasi futura modifica del processo del principio attivo.

Scadenza: luglio 2021,

Rapporti intermedi, marzo 2021

- d. Poiché l'integrità e la polidispersione dell'mRNA sono CQA (Critical Quality Attribute) per l'efficacia del medicinale, **i criteri di accettazione del prodotto finito per questi parametri dovrebbero essere rivisti man mano che ulteriori dati diventano disponibili da studi clinici in corso e in linea con la capacità del processo di produzione.**

Scadenza: luglio 2021,

Rapporti intermedi: marzo 2021.

- e. Dovrebbero essere forniti dati aggiuntivi per supportare l'idoneità del metodo utilizzato per la determinazione della potenza o dovrebbe essere sviluppato e introdotto un saggio alternativo adatto a questo scopo. Quindi **i criteri di accettazione della potenza del prodotto finito dovrebbero essere rivisti** di conseguenza.

Scadenza: luglio 2021,

Rapporti intermedi: marzo 2021

- f. **Le impurità legate ai lipidi dovrebbero essere ulteriormente valutate.** Una strategia di controllo appropriata dovrebbe essere introdotta, adeguatamente giustificata e fornita per la valutazione durante il secondo trimestre del 2021.

Data di scadenza: luglio 2021,

Rapporti intermedi (contenuto LMS in lotti commerciali FP, risultati delle indagini): marzo 2021 e su base mensile.

**Per quanto riguarda l'SO3**, è necessario fornire i seguenti dati al fine di garantire la coerenza da lotto a lotto e per completare le informazioni sulla convalida del processo di fabbricazione del prodotto finito.

- a. I lotti di PPQ di prodotti finiti su scala commerciale saranno fabbricati presso l'impianto commerciale Pfizer Puurs, in Belgio. Il richiedente deve fornire la relazione di sintesi sulle attività di convalida del processo su scala commerciale completate. Data di scadenza: marzo 2021.
- b. Il richiedente deve eseguire test sui futuri lotti di convalida del processo del prodotto finito secondo il protocollo di test di comparabilità esteso e i risultati dovrebbero essere forniti per la valutazione. Data di scadenza: marzo 2021.

**Per quanto riguarda l'SO4**, è necessario fornire i dati relativi al processo sintetico e alla strategia di controllo per l'eccipiente ALC-0315 al fine di migliorare la strategia di controllo delle impurità, assicurare un controllo di qualità completo e la coerenza da lotto a lotto per tutto il ciclo di vita del prodotto finito Prodotto.

- a. **Deve essere fornita una descrizione dettagliata della sintesi chimica di ALC-0315** (ad es. informazioni sui reagenti e sulle condizioni di processo). Data di scadenza: gennaio 2021
- b. **Le differenze nel processo di produzione tra due fornitori dovrebbero essere descritte e il possibile impatto sul profilo di impurità dovrebbe essere discusso** entro luglio 2021. Rapporto intermedio: gennaio 2021
- c. **Dovrebbero essere fornite informazioni e giustificazione del controllo di qualità delle materie prime** (ad esempio, percorso sintetico generale, fornitore e specifiche) e **solventi**. Scadenza: luglio 2021, rapporto intermedio: gennaio 2021

- d. Dovrebbero essere fornite informazioni e giustificazioni sulle fasi critiche e sugli intermedi (comprese le specifiche). Scadenza: luglio 2021, rapporto intermedio: gennaio 2021
- e. **Le impurità specificate dovrebbero essere ulteriormente valutate e dovrebbero essere inclusi limiti di specifica appropriati per le singole impurità quando sono disponibili più dati.** I criteri di accettazione per le impurità specificate e non specificate dovrebbero essere aggiunti alla specifica per ALC-0315 e dovrebbero anche essere valutati durante gli studi di stabilità. Scadenza: luglio 2021, rapporto intermedio: aprile 2021
- f. **Il limite di specifica per le impurità totali dovrebbe essere rivalutato man mano che più dati sui lotti diventano disponibili e rivisti,** come appropriato. Data di scadenza: luglio 2021
- g. Il limite delle specifiche per il dosaggio dovrebbe essere rafforzato sulla base dei dati del lotto forniti per migliorare la strategia di controllo della qualità del prodotto finito. Data di scadenza: luglio 2021
- h. **Devono essere forniti rapporti dettagliati di convalida del metodo per analisi, impurità e solventi residui per ALC-0315.** Data di scadenza: luglio 2021
- i. **Devono essere forniti i risultati degli studi di stabilità** in conformità con le linee guida ICH. Scadenza: luglio 2021, rapporto intermedio: aprile 2021
- j. **Per quanto riguarda l'SO5,** è necessario fornire i seguenti dati relativi al processo sintetico e alla strategia di controllo per ALC-0159 al fine di migliorare la strategia di controllo delle impurità, assicurare un controllo completo e la coerenza da lotto a lotto per tutto il ciclo di vita del prodotto attivo.
- k. **Deve essere fornita una descrizione dettagliata della sintesi chimica di ALC-0159** (ad es. informazioni sui reagenti e sulle condizioni di processo). Data di scadenza: gennaio 2021
- l. **Devono essere fornite informazioni e controllo di qualità dei materiali di partenza** (ad esempio, percorso sintetico generale, fornitore e specifiche) **e solventi.** Criteri di accettazione pertinenti per il peso molecolare e la polidispersione dovrebbero essere inclusi nella specifica per il materiale di partenza carbossi-MPEG. Scadenza: luglio 2021, rapporto intermedio: gennaio 2021
- m. **Dovrebbero essere fornite informazioni e giustificazione delle fasi critiche e dei prodotti intermedi** (comprese le specifiche). Scadenza: luglio 2021, rapporto intermedio: gennaio 2021
- n. **Il limite delle specifiche per il dosaggio dovrebbe essere rafforzato** sulla base dei dati del lotto al fine di fornire un controllo di qualità più rigoroso del prodotto finito. Scadenza: luglio 2021, rapporto intermedio: aprile 2021
- o. **Le impurità specificate dovrebbero essere ulteriormente valutate e dovrebbero essere inclusi limiti di specifica appropriati per le singole impurità quando sono disponibili più dati.** I criteri di accettazione per le impurità specificate e non specificate dovrebbero essere aggiunti alla specifica per ALC-0159 e dovrebbero essere valutati anche durante gli studi di stabilità. Scadenza: luglio 2021, rapporto intermedio: aprile 2021
- p. **Il limite di specifica per le impurezze totali dovrebbe essere rivalutato** man mano che sono disponibili più dati sui lotti e rivisti, se del caso. Data di scadenza: luglio 2021
- q. **I criteri di accettazione per il tetraidrofurano dovrebbero essere aggiunti alla specifica per ALC-0159,** salvo diversa giustificazione, poiché è incluso come solvente nella fase 2 della sintesi. Data di scadenza: gennaio 2021
- r. **Devono essere forniti rapporti dettagliati di convalida del metodo per analisi, impurità e solventi residui per ALC-0159.** Scadenza: luglio 2021, rapporto intermedio: aprile 2021



- s. **Devono essere forniti i risultati degli studi di stabilità** in conformità con le linee guida ICH.  
Scadenza: luglio 2021, rapporto intermedio: aprile 2021

Peter Doshi lo scorso 18 maggio sul BMJ rileva: *“Mentre centinaia di milioni di persone in tutto il mondo si vaccinano, può sembrare un gioco di parole sottolineare il fatto che **nessuno dei vaccini COVID-19 in uso è effettivamente “approvato”**”*<sup>70</sup>.

Scrive L'ISS nel suo Rapporto ISS COVID-19, n. 3/2021, *“Aspetti di etica nella sperimentazione di vaccini anti-COVID-19”*, versione del 18 febbraio<sup>71</sup>: *“Un limite delle sperimentazioni per lo sviluppo di vaccini anti-COVID-19 consiste **nell'impossibilità di rilevare dati di sicurezza ed efficacia a lungo termine e nella difficoltà di acquisire informazioni su altri esiti importanti quali forme gravi di malattia, ospedalizzazione, mortalità, efficacia in alcuni sottogruppi** (es. anziani per i quali si ha più difficoltà nell'arruolamento), **se non in un momento successivo all'approvazione.**”*

E aggiunge: *“In un contesto di approvazione in emergenza per un nuovo vaccino anti-COVID-19, possono presentarsi diversi aspetti critici in assenza di un adeguato follow-up: **dati di efficacia poco “robusti”, bassa potenza dello studio per identificare eventi avversi non comuni, mancanza di dati di sicurezza a lungo termine (es. malattie autoimmuni e sindromi neurologiche, intensificazione dell'infezione anticorpo-mediata), non conoscenza della durata della risposta immunitaria (che dovrebbe proteggere dalla malattia).** A tale proposito si è espressa l'ICMRA che raccomanda che gli studi in corso proseguano i follow-up come inizialmente pianificato nei protocolli (per almeno uno o più anni) e sia mantenuta fin quando possibile la valutazione dei soggetti randomizzati nel gruppo che riceve la vaccinazione e nel rispettivo gruppo di controllo (ICMRA, 2020c).*

(...)

*“Secondo Eyal e Lipstich, in seguito all'approvazione di un vaccino, la decisione di offrire a tutti i partecipanti ad una sperimentazione il vaccino approvato è **incompatibile con la possibilità per lo studio di produrre risultati validi**, che è un requisito fondamentale della ricerca (Eyal et al., 2020a). Una posizione simile è stata espressa dal gruppo di lavoro WHO sulla valutazione dei vaccini anti-COVID-19 (WHO, 2021) secondo cui, nelle condizioni attuali, l'apertura del cieco per i partecipanti che desiderino ottenere un vaccino sperimentale approvato non dovrebbe costituire un obbligo etico per i responsabili delle sperimentazioni, poiché **in seguito alla distribuzione del vaccino i dati osservazionali ottenuti da studi non randomizzati fornirebbero risposte inaffidabili e fuorvianti sulla sicurezza e l'efficacia.** Sulla stessa linea, l'ICMRA ha rilasciato uno Statement on continuation of vaccine trials in cui si raccomanda che gli studi in corso proseguano i follow-up come inizialmente pianificato nei protocolli (per almeno uno o più anni) e venga mantenuta fin quando possibile la valutazione dei soggetti randomizzati nel gruppo che riceve la vaccinazione e nel rispettivo gruppo di controllo (ICMRA, 2020c).*

*Secondo i sostenitori della prosecuzione degli studi controllati con placebo, nella valutazione di benefici e rischi della prosecuzione bisogna distinguere le finalità degli studi sui vaccini, che sono interventi preventivi, dalle finalità degli studi terapeutici. **Mentre in un trial terapeutico i partecipanti nel gruppo placebo, essendo malati e non ricevendo un intervento che li potrebbe curare sono esposti ad un rischio, nello studio di un vaccino i partecipanti al gruppo placebo sono soggetti sani che non ricevono un intervento protettivo nei confronti di una possibile infezione, e dunque sono esposti ad un rischio solo eventuale, e comunque ipotetico come il contagio in cui può incorrere qualunque altro soggetto, anche non partecipante ad una sperimentazione vaccinale. Inoltre, nel caso di SARS-CoV-2, i partecipanti allo studio per un vaccino hanno altri strumenti a disposizione per proteggersi, come il lavaggio delle mani, l'uso delle mascherine e il distanziamento sociale.”***

<sup>70</sup> BMJ 2021; 373 doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.n1244> (Published 18 May 2021)

<sup>71</sup> [https://www.iss.it/documents/20126/0/Rapporto+ISS+COVID-19+3\\_2021.pdf/00fc6054-ded3-5de8-d32f-59bf69d73b02?t=1617348183776](https://www.iss.it/documents/20126/0/Rapporto+ISS+COVID-19+3_2021.pdf/00fc6054-ded3-5de8-d32f-59bf69d73b02?t=1617348183776)



Per questi farmaci l'autorizzazione condizionata potrà essere in futuro convertita in STANDARD MARKETING AUTHORIZATION?

Si legge nell' Assessment report del farmaco Comirnaty di Pfizer-BioNTech<sup>72</sup>:

*“È probabile che il richiedente sarà in grado di fornire dati completi. Il Richiedente intende continuare lo studio di Fase 3 in corso con i partecipanti come originariamente assegnato il più a lungo possibile, per ottenere dati a lungo termine e per garantire un seguito sufficiente a sostegno di un'autorizzazione all'immissione in commercio standard. In caso di disponibilità di un qualsiasi vaccino COVID-19.*

*Lo sponsor farà appello ai partecipanti affinché rimangano nello studio in corso come originariamente randomizzato il più a lungo possibile, idealmente fino a quando un vaccino COVID-19 avrà la piena approvazione regolamentare.*

*In tutti i casi, si intende seguire i partecipanti fino ai 24 mesi previsti originariamente dopo la vaccinazione, indipendentemente dal fatto che i partecipanti scelgano di passare dal placebo alla vaccinazione attiva.”*

**È CHIARO CHE LA FUORIUSCITA DEI PARTECIPANTI DALLO STUDIO CARDINE, QUELLO SU CUI SI È BASATA L'AUTORIZZAZIONE ALL'IMMISSIONE IN COMMERCIO CONDIZIONATA, INFICEREBBE LA POSSIBILITÀ DI COMPLETARE/INTEGRARE GLI STUDI E DI CONFERMARE I BENEFICI DEL VACCINO; INFATTI, “L'OBIETTIVO DELLO STUDIO È QUELLO DI VALUTARE LA SICUREZZA, LA TOLLERABILITÀ, L'IMMUNOGENICITÀ E L'EFFICACIA DEL VACCINO M-RNA COVID-19.”**

L'eventuale conferma, in ogni caso, potrebbe arrivare non prima di due anni.

Il titolare della licenza, infatti, dovrà presentare la relazione finale dello studio cardine, soggetta a Obbligo Specifico nel contesto di un'autorizzazione all'immissione in commercio condizionata, entro dicembre 2023.

Gli studi di fase III di Pfizer e Moderna hanno entrambi una durata di due anni.

Consultando i dati descrittivi dello studio cardine (ossia quello su cui si è basata la CMA) dei rispettivi vaccini anti-covid, Pfizer<sup>73</sup> e Moderna<sup>74</sup> nel portale *clinicaltrials.org*, non solo si evince che ai volontari del gruppo placebo è stato offerto il trattamento di profilassi oggetto della sperimentazione ma questa opportunità è contemplata come parte dello studio stesso.

Il BMJ ha chiesto a Moderna, Pfizer e Janssen (Johnson and Johnson) quale proporzione di partecipanti allo studio sono già formalmente fuori dal cieco e quanti originariamente assegnati al placebo hanno ora ricevuto un vaccino. **Pfizer ha rifiutato di rispondere** mentre **Moderna** ha annunciato che *"dal 13 aprile a tutti i partecipanti al placebo è stato offerto il vaccino Moderna COVID-19 e il 98% di questi ha ricevuto il vaccino"*. In altre parole, scrive Doshi, *"la sperimentazione non è più cieca e il gruppo placebo non esiste più."*<sup>75</sup>

Dall'elenco degli studi in corso per questi vaccini<sup>76</sup> (al 20 maggio se ne contano 54 per il vaccino Pfizer-BioNTech e 40 per il vaccino Moderna), inoltre, emerge chiaramente quanto poco si conosca oggi di questi farmaci.

---

<sup>72</sup> [https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/comirnaty-epar-public-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/comirnaty-epar-public-assessment-report_en.pdf)

<sup>73</sup> <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT04368728>

<sup>74</sup> <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT04470427>

<sup>75</sup> BMJ 2021; 373 doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.n1244> (Published 18 May 2021)

<sup>76</sup>

[https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=Covid19&term=pfizer&type=&rslt=&age\\_v=&gndr=&intr=&titles=&outc=&spons=&lead=&id=&cntry=&state=&city=&dist=&locn=&rsub=&strd\\_s=&strd\\_e=&prcd\\_s=&prcd\\_e=&sfpd\\_s=&sfpd\\_e=&rfpd\\_s=&rfpd\\_e=&lupd\\_s=&lupd\\_e=&sort=](https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=Covid19&term=pfizer&type=&rslt=&age_v=&gndr=&intr=&titles=&outc=&spons=&lead=&id=&cntry=&state=&city=&dist=&locn=&rsub=&strd_s=&strd_e=&prcd_s=&prcd_e=&sfpd_s=&sfpd_e=&rfpd_s=&rfpd_e=&lupd_s=&lupd_e=&sort=)

A titolo di esempio si riportano gli obiettivi di alcuni studi clinici del vaccino Moderna:

- Lo scopo di questo studio è valutare l'infezione da SARS CoV-2, la diffusione virale e la successiva potenziale trasmissione **negli studenti universitari** immunizzati con il vaccino Moderna COVID-19. (vedi <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04811664?term=Moderna&cond=Covid19&draw=4&rank=1>)
- Obiettivo primario di questo studio monocentrico è quello di esaminare la concentrazione di anticorpi RBD della glicoproteina SARS-CoV-2 Spike nella saliva e nel siero in soggetti sani non vaccinati e non infetti da SARS-CoV-2, convalescenti COVID-19, vaccinati con Pfizer-BioNTech BNT162b2, Moderna mRNA-1273 o AstraZeneca ChAdOx1 nCov-19 AZD1222 e pazienti convalescenti COVID-19 che sono stati successivamente vaccinati. Sarà scoperta una potenziale differenza nelle concentrazioni di immunoglobuline del vaccino Pfizer-BioNTech BNT162b2, del vaccino Moderna mRNA-1273 e del vaccino AstraZeneca ChAdOx1-S. Questa conoscenza dell'immunità della mucosa sarà importante per l'ulteriore progettazione delle strategie sui vaccini. (vedi <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04842305?term=Moderna&cond=Covid19&draw=2>)
- Lo studio valuterà il vaccino COVID-19 basato su Moderna RNA **nelle persone con malattie reumatiche**. Questo studio aiuterà a capire quali sono gli effetti collaterali del vaccino in questi pazienti, inclusa la riattivazione significativa della malattia, e qual è la loro capacità di sviluppare anticorpi che possono conferire protezione dalla malattia COVID-19. (vedi <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04806113?term=Moderna&cond=Covid19+AND+%22Rheumatic+Diseases%22&draw=2&rank=1>)
- Studio osservazionale allo scopo di valutare l'influenza dei vaccini mRNA sulla riserva ovarica determinata dal cambiamento di AMH prima e tre mesi dopo la vaccinazione. Poiché Israele è il primo paese a vaccinare estesamente la sua popolazione utilizzando il vaccino mRNA contro COVID-19, la valutazione della sua influenza sulla riserva ovarica è essenziale. (vedi <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04748172?term=Moderna&cond=Covid19&draw=5&rank=36>)
- Questo studio si propone di affrontare i seguenti tre obiettivi:
  - Valutazione longitudinale dello sviluppo delle risposte CMI in risposta al vaccino SARS-CoV-2 protezione dalla malattia COVID-19,
  - Identificazione dei fattori cellulari e solubili che influenzano la reattività del vaccino,
  - Esaminare la variabilità dei geni immunitari e virali e la loro relazione con le risposte immunitarie indotte dal vaccino (Risposte delle cellule T nasali, Fenotipo dei linfociti T CD4 e CD8 + misurato con tamponi nasali, Risposte sistemiche delle cellule T, Reattività delle citochine ai linfociti T CD4 e CD8 + specifici per SARS-CoV-2 nel sangue, Risposte anticorpali sistemiche e nasali). (vedi <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04713163?term=Moderna&cond=Covid19&draw=5&rank=8>)
- Studio randomizzato, in singolo cieco, controllato con placebo di una terza dose di vaccino Moderna rispetto al placebo. I partecipanti saranno reclutati da una coorte osservazionale di **pazienti trapiantati** che hanno ricevuto due dosi di vaccino COVID mRNA- 1273 (Moderna) a 0 e 1 mese. I partecipanti saranno randomizzati 1: 1 per ricevere una terza dose del vaccino mRNA- 1273 o un placebo salino 3 mesi dopo la vaccinazione iniziale. (titolo anticorpale anti- RBD, percentuale di pazienti che raggiungono un anti- RBD > = 100 U / mL in ciascun braccio) (vedi

---

[https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=Covid19&term=Moderna&type=&rslt=&age\\_v=&gndr=&intr=&titles=&outc=&spons=&lead=&id=&cntry=&state=&city=&dist=&locn=&rsub=&strd\\_s=&strd\\_e=&prcd\\_s=&prcd\\_e=&sfpd\\_s=&sfpd\\_e=&rfpd\\_s=&rfpd\\_e=&lupd\\_s=&lupd\\_e=&sort=](https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=Covid19&term=Moderna&type=&rslt=&age_v=&gndr=&intr=&titles=&outc=&spons=&lead=&id=&cntry=&state=&city=&dist=&locn=&rsub=&strd_s=&strd_e=&prcd_s=&prcd_e=&sfpd_s=&sfpd_e=&rfpd_s=&rfpd_e=&lupd_s=&lupd_e=&sort=)

<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04885907?term=Moderna&cond=Covid19&draw=5&rank=2>)

- Questo studio mira a raccogliere le esperienze dei pazienti, le scelte e gli effetti collaterali associati al vaccino COVID-19 dopo l'intervento chirurgico per il **cancro al seno**. Il gonfiore dei linfonodi è un effetto collaterale noto e comune di entrambi i vaccini Moderna e Pfizer COVID-19. Questa è la normale reazione del corpo al vaccino. **È preoccupante che il gonfiore dei linfonodi dopo il vaccino imiti quello trovato nel cancro al seno che si è diffuso ai linfonodi.** Questo effetto collaterale causerà di conseguenza preoccupazione e ansia nei pazienti. Per le pazienti che hanno avuto la rimozione dei linfonodi (dissezione dei linfonodi ascellari o biopsia del linfonodo sentinella) e sono a rischio di linfedema, i ricercatori sono preoccupati che il gonfiore dei linfonodi possa caricare il sistema linfatico e favorire il linfedema in quelle a rischio o peggiorarlo in quelle con BCRL. La paura del linfedema è alta in questa popolazione e i ricercatori hanno bisogno di capire meglio quale rischio apporta, se c'è, il gonfiore linfonodale dopo il vaccino COVID-19 al rischio BCRL. (vedi <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04872738?term=Moderna&cond=Covid19&draw=3>)

## RISCHI COLLEGATI ALLA MANCANZA DI VALUTAZIONE DEI RISCHI CONNESSI AI MEDICINALI CONTENENTI OGM O DA ESSI COSTITUITI (DEROGA DELLE DISPOSIZIONI DELLA DIRETTIVA OGM)

Va rilevato che superando ogni probabile e non trascurabile impatto sulla salute e sull'ambientale, lo scorso luglio, su proposta della Commissione europea approvata dal Parlamento, il Consiglio Europeo ha emanato un **Regolamento<sup>77</sup> che deroga** "per il periodo durante il quale la pandemia di Covid-19 è considerata un'emergenza sanitaria pubblica, da alcune **disposizioni della direttiva OGM** per le sperimentazioni cliniche dei farmaci destinati a trattare o prevenire la Covid-19 (e anche per i trattamenti contro la Covid-19) contenenti OGM o da essi costituiti. **La deroga proposta è applicata alle operazioni necessarie nella fase di sperimentazione clinica e nell'uso compassionevole o di emergenza nel contesto della pandemia di Covid-19.**"

## RISCHI COLLEGATI ALLA MANCANZA DI STUDI DI FARMACOLOGIA DI SICUREZZA, GENOTOSSICITÀ E CANCEROGENICITÀ

Nell'Assessment report del vaccino Pfizer-BioNTech e del vaccino Moderna si legge che non sono stati condotti studi di farmacologia di sicurezza poiché non sono considerati necessari secondo le linee guida dell'OMS (OMS, 2005). Ciò nonostante EMA nel 2001 abbia pubblicato una **guida agli studi di farmacologia di sicurezza<sup>78</sup>** rilevando che *"si applica generalmente alle nuove entità chimiche e ai prodotti derivati dalla biotecnologia per uso umano"*.

Riguardo alla genotossicità e cancerogenicità:

- Nel RCP del vaccino Moderna è indicato: *"Sono stati condotti studi di genotossicità in vitro e in vivo con il nuovo componente lipidico SM-102 del vaccino. I risultati suggeriscono che la potenziale genotossicità per gli esseri umani è bassa. Non sono stati eseguiti studi di cancerogenicità."*

---

<sup>77</sup> <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/HTML/?uri=CELEX:52020DC0245&from=EN>, <https://www.europarl.europa.eu/news/it/press-room/20200706IPR82731/covid-19-il-parlamento-deve-consentire-uno-sviluppo-piu-rapido-dei-vaccini#:~:text=La%20Commissione%20ha%20proposto%20un,o%20sono%20costituiti%20da%20OGM>

<sup>78</sup> [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-s-7-safety-pharmacology-studies-human-pharmaceuticals-step-5\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-s-7-safety-pharmacology-studies-human-pharmaceuticals-step-5_en.pdf)

- Nel RCP del vaccino Pfizer-BioNTech è indicato che *“Non sono stati condotti studi di genotossicità o sul potenziale cancerogeno”* seppur si legga poi: *“Si **ritiene** che i componenti del vaccino (lipidi e mRNA) non presentino alcun potenziale genotossico.”*

## PARTE QUARTA

## SEGNALAZIONE DI SOSPETTE REAZIONI AVVERSE

La vaccinovigilanza, come è noto, si basa sulle informazioni raccolte tramite il sistema di farmacovigilanza passiva, dove confluiscono le segnalazioni spontanee delle sospette reazioni avverse dopo vaccinazione (AEFI; *Adverse Event Following Immunization*), e tramite il sistema di farmacovigilanza attiva, laddove vengano predisposti specifici studi post-marketing che indaghino attivamente gli eventi post vaccinazione per un determinato lasso temporale.

La presenza di questi progetti può portare ad un aumento significativo del numero di segnalazioni raccolte dalla Rete Nazionale di Farmacovigilanza ma non è nota l'entità di simili studi, nonostante la mancanza di dati a supporto e consolidamento delle evidenze di efficacia e sicurezza di questi farmaci.

Queste le tabelle di riferimento dei dati pubblicati da Eudravigilance<sup>79</sup> sulle sospette reazioni avverse ai farmaci per il trattamento di profilassi della Covid-19 di Pfizer-BioNTech, Moderna e AstraZeneca e Johnson & Johnson.

**Tab. 1:** dati aggiornati al 14 maggio 2021 delle segnalazioni di reazioni avverse al **vaccino Pfizer** (Tozinameran) riportati dal servizio EudraVigilance (paesi EEA e non EEA)

Fascia di età	Gravi	Non Gravi	Totali	% Gravi	% Non Gravi	Decessi	% Decessi	% Decessi su reazioni gravi
0-1 mesi	6	32	38	15,8%	84,2%	0	0,0%	0,0%
2 mesi - 2 anni	33	32	65	50,8%	49,2%	1	1,5%	3,0%
3-11 anni	14	11	25	56,0%	44,0%	0	0,0%	0,0%
12-17 anni	159	60	219	72,6%	27,4%	1	0,5%	0,6%
18-64 anni	38.162	93.369	13.1531	29,0%	71,0%	351	0,3%	0,9%
65-85 anni	13.951	12.263	26.214	53,2%	46,8%	1.342	5,1%	9,6%
più di 85 anni	5.220	4.575	9.795	53,3%	46,7%	1.620	16,5%	30,9%
Non specificato	5.638	4.509	10.147	55,6%	44,4%	259	2,6%	4,6%
<b>TOTALE</b>	<b>63.183</b>	<b>114.851</b>	<b>178.034</b>			<b>3.574</b>		

**Tab. 2:** dati aggiornati al 14 maggio 2021 delle segnalazioni di reazioni avverse al vaccino Moderna (Covid-19 mRNA vaccine Moderna, CX-024414) riportati dal servizio EudraVigilance (paesi EEA e non EEA)

Fascia di età	Gravi	Non Gravi	Totali	% Gravi	% Non Gravi	Decessi	% Decessi	% Decessi su reazioni gravi
0-1 mesi	0	1	1	0,0%	100,0%	0	0,00	-
2 mesi - 2 anni	5	8	13	38,5%	61,5%	0	0,00	0,0%
3-11 anni	3	1	4	75,0%	25,0%	0	0,00	0,0%
12-17 anni	9	2	11	81,8%	18,2%	1	9,09	11,1%
18-64 anni	5.752	9.700	15.452	37,2%	62,8%	376	2,43	6,5%
65-85 anni	4.785	2.354	7.139	67,0%	33,0%	989	13,85	20,7%
più di 85 anni	1.342	512	1.854	72,4%	27,6%	597	32,20	44,5%
Non specificato	652	570	1.222	53,4%	46,6%	35	2,86	5,4%
<b>TOTALE</b>	<b>12.548</b>	<b>13.148</b>	<b>25.696</b>			<b>1.998</b>		

<sup>79</sup> <http://www.adrreports.eu/en/index.html>

**Tab. 3:** dati aggiornati al 14 maggio 2021 delle segnalazioni di reazioni avverse al vaccino Pfizer (Covid-19 vaccine AstraZeneca, CHADOX1 NCOV-19) riportati dal servizio EudraVigilance (paesi EEA e non EEA)

Fascia di età	Gravi	Non Gravi	Totali	% Gravi	% Non Gravi	Decessi	% Decessi	% Decessi su reazioni gravi
0-1 mesi	128	49	177	72,3%	27,7%	1	0,6%	0,8%
2 mesi - 2 anni	208	50	258	80,6%	19,4%	0	0,0%	0,0%
3-11 anni	216	39	255	84,7%	15,3%	1	0,4%	0,5%
12-17 anni	126	52	178	70,8%	29,2%	0	0,0%	0,0%
18-64 anni	88.701	87.477	17.6178	50,3%	49,7%	520	0,3%	0,6%
65-85 anni	22.217	6.903	29.120	76,3%	23,7%	589	2,0%	2,7%
più di 85 anni	1.215	261	1.476	82,3%	17,7%	293	19,9%	24,1%
Non specificato	9.529	3.897	13.426	71,0%	29,0%	125	0,9%	1,3%
<b>TOTALE</b>	<b>122.340</b>	<b>98.728</b>	<b>221.068</b>			<b>1.529</b>		

**Tab. 4:** dati aggiornati al 14 maggio 2021 delle segnalazioni di reazioni avverse al vaccino Pfizer (Covid-19 vaccine JANSSEN, AD26.CO2.S) riportati dal servizio EudraVigilance (paesi EEA e non EEA)

Fascia di età	Gravi	Non Gravi	Totali	% Gravi	% Non Gravi	Decessi	% Decessi	% Decessi su reazioni gravi
0-1 mesi								
2 mesi - 2 anni	0	1	1	0,0%	100,0%	0	0,0%	
3-11 anni								
12-17 anni								
18-64 anni	1.217	1.917	3.134	38,8%	61,2%	65	2,1%	5,3%
65-85 anni	394	38	432	91,2%	8,8%	41	9,5%	10,4%
più di 85 anni	61	1	62	98,4%	1,6%	9	14,5%	14,8%
Non specificato	263	166	429	61,3%	38,7%	20	4,7%	7,6%
<b>TOTALE</b>	<b>1.935</b>	<b>2.123</b>	<b>4.058</b>			<b>135</b>		

Complessivamente l'agenzia ha riscontrato questi dati al 14 maggio:

- Un totale di:
  - 428.856** reazioni avverse di cui,
  - 200.006** reazioni avverse **gravi** (46,6%) e,
  - 228.850** reazioni avverse **non gravi** (53,4%),

Non sono disponibili dati sulla somministrazione dei farmaci in questione per fasce di età – anche in base alla politica sanitaria messa in atto dai vari paesi, ma dai dati cumulativi disponibili possiamo dire che la distribuzione delle reazioni avverse (significativa) è la seguente:

- circa il **76,1%** nella fascia di età 18-64 anni,
- circa il **14,7%** nella fascia di età 65-85 anni,
- circa il **3,1%** nella fascia di età > 85 anni,
- circa il **5,9%** non specificato,

posto che, comunque, esistono dati sulla somministrazione e su reazioni avverse anche nelle fasce di età (< 16 anni) per le quali i vaccini non sono stati approvati, nemmeno in modo condizionato.

Il dato importante che emerge, a prima vista, è quello che indica come si stiano

concentrando le reazioni avverse nella fascia di popolazione meno colpita dalle reazioni sintomatiche della malattia. Se facciamo riferimento soprattutto alle reazioni gravi, la distribuzione è la seguente:

- circa il **66,9%** nella fascia di età 18-64 anni,
- circa il **20,7%** nella fascia di età 65-85 anni,
- circa il **3,9%** nella fascia di età > 85 anni,
- circa il **8%** non specificato; le frazioni mancanti sono a carico della fascia di età < 18 anni.

- Un totale di **7.236 decessi** correlabili alle vaccinazioni, ma sui quali non abbiamo alcun riscontro in merito alle indagini da parte degli enti di controllo
- Anche in questo caso possiamo osservare una diversa distribuzione dell'incidenza dei decessi correlabili alla somministrazione vaccinale per fasce di età:
  - circa lo **0,4%** nella fascia di età 18-64 anni,
  - circa il **4,7%** nella fascia di età 65-85 anni,
  - circa il **19,1%** nella fascia di età > 85 anni,
  - circa l'**1,7%** non specificato.

Se facessimo riferimento solo alle reazioni avverse gravi allora l'incidenza sarebbe la seguente:

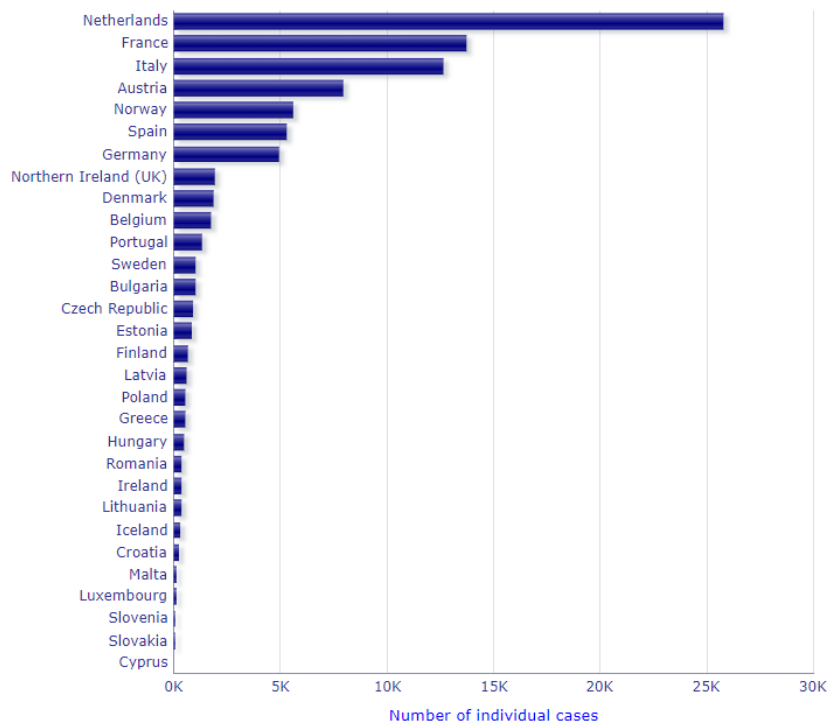
- circa lo **1%** nella fascia di età 18-64 anni,
- circa il **7,2%** nella fascia di età 65-85 anni,
- circa il **32,1%** nella fascia di età > 85 anni,
- circa l'**2,7%** non specificato,

Seppur sia noto che questi casi fatali non siano a priori correlabili alla vaccinazione (e in base all'applicazione dell'algoritmo definito dall'OMS difficilmente lo potranno essere) è altrettanto noto che rispetto a un sistema di vaccinovigilanza attiva (molto più rispondente alla realtà dei fatti) questi numeri risultino fortemente sottostimati.

- Una nota particolare va dedicata alla fascia pediatrica sulla quale è evidente che i dati si riferiscano alla sperimentazione clinica in corso, anche se siamo nell'imminenza dell'approvazione dei vaccini Covid-19 per le fasce pediatriche. La questione pone davvero importanti interrogativi a cominciare dalla opportunità di autorizzare simili trial, considerato che solo una piccola percentuale dei casi positivi ha compiuto 18 anni e nella maggior parte dei casi manifesta la malattia in forma asintomatica.

Come è stato detto nell'esposizione puntuale precedente è difficile acquisire dati sulla somministrazione vaccinale sovrapponibili ai dati raccolti dal servizio EudraVigilance: per questo motivo abbiamo concentrato la nostra attenzione sui dati nazionali.

Il servizio EudraVigilance fornisce infatti i dati cumulativi delle segnalazioni di reazioni avverse aggiornati settimanalmente per ogni paese e per ogni vaccino (esempio, <https://dap.ema.europa.eu/analytics/saw.dll?PortalPages>):



**Fig. 2:** grafico relativo alla raccolta delle segnalazioni di reazione avversa al vaccino COVID-19 AstraZeneca (CHADOX1 NCOV-19) da parte di EudraVigilance

Da questi dati possiamo ricavare una fotografia settimanale della situazione che per correttezza, nel nostro caso, propone un leggero disallineamento fra i dati nell'intervallo di tempo 30 aprile-1° maggio. Tuttavia, riteniamo che l'errore sia trascurabile ai fini di questa esposizione (peraltro i dati sulla somministrazione vaccinale riportati giornalmente vengono continuamente modificati anche per i giorni precedenti, rendendo praticamente impossibile un calcolo rigoroso se non attraverso continui aggiornamenti anche dei dati che dovrebbero essere considerati "consolidati").

Questo il prospetto:

- Vaccino Pfizer BioNTech:
  - Dosi somministrate: 18.520.894,
  - Reazioni avverse segnalate: 44.962,
  - Incidenza: **2,43** reazioni ogni 1.000 dosi somministrate.
- Vaccino Moderna:
  - Dosi somministrate: 2.186.126,
  - Reazioni avverse segnalate: 2.279,
  - Incidenza: **1,04** reazioni ogni 1.000 dosi somministrate.
- Vaccino AstraZeneca:
  - Dosi somministrate: 5.689.578,
  - Reazioni avverse segnalate: 14.367,
  - Incidenza: **2,53** reazioni ogni 1.000 dosi somministrate.
- Vaccino Johnson & Johnson:
  - Dosi somministrate: 215.192,
  - Reazioni avverse segnalate: 122,
  - Incidenza: **0,57** reazioni ogni 1.000 dosi somministrate.



Il rapporto AIFA<sup>80</sup> (IV°) ci fa sapere che la distribuzione fra reazioni avverse gravi e non gravi è 8,6/91,2%.

Come possiamo notare, confrontando le incidenze delle reazioni gravi sul totale ci sono differenze importanti: ammettiamo però che i contesti di farmacovigilanza (anche quella passiva) siano diversi fra paesi diversi e quindi evitiamo di fare confronti che potrebbero portarci fuori strada.

Tuttavia, occorre rilevare doverosamente che i dati EudraVigilance e AIFA sono raccolti in un sistema di farmacovigilanza passiva: siamo in grado, a questo proposito, di confrontare i dati di farmacovigilanza attiva e passiva sulla base di alcuni riferimenti bibliografici che andiamo a illustrare brevemente:

- **Il primo** riferimento è proprio il Rapporto periodico di AIFA: sorveglianza “spontanea”, quindi Passiva, fonte <https://www.aifa.gov.it/-/terzo-rapporto-aifa-sullasorveglianza-dei-vaccini-covid-19>, nel quale le reazioni avverse sono quantificate in:
  - reazioni avverse, **510** ogni 100.000 dosi somministrate,
  - reazioni avverse gravi, **36** ogni 100.000 dosi somministrate;
- **Il secondo** riferimento è uno studio sperimentale, pubblicato di pubmed, “*Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine*” che possiamo far rientrare in una metodica di sorveglianza Attiva: fonte <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33301246/>, nel quale le reazioni avverse sono quantificate in:
  - reazioni avverse, **59.000** ogni 100.000 dosi somministrate,
  - reazioni avverse gravi, **3.800** ogni 100.000 dosi somministrate,
  - rapporto fra sorveglianza attiva/passiva: **116 volte**,
- **Il terzo** riferimento è uno studio sul campo, pubblicato sulla rivista MDPI, “*Self-Reported Real-World Safety and Reactogenicity of COVID-19 Vaccines: A Vaccine Recipient Survey*” che possiamo far rientrare in una metodica di sorveglianza Attiva: fonte <https://www.mdpi.com/2075-1729/11/3/249>, nel quale le reazioni avverse sono quantificate in:
  - reazioni avverse, **85.000** ogni 100.000 dosi somministrate,
  - reazioni avverse gravi, **6.000** ogni 100.000 dosi somministrate;
  - rapporto fra sorveglianza attiva/passiva: **167 volte**,

**Come abbiamo visto, l'ultimo rapporto AIFA riporta le segnalazioni (in gran parte "spontanee") di 223 decessi avvenuti dopo i vaccini anti-COVID-19 e sostiene che il vaccino non avrebbe responsabilità nella maggior parte dei casi (si parla di soli 3 casi correlabili alla vaccinazione).**

Si tratterebbe di soggetti con patologie intercorrenti o pregresse. L'AIFA si appella al metodo di valutazione usato che è quello dell'OMS: come vari autori hanno già potuto dimostrare<sup>81</sup> il metodo dell'OMS è fondamentalmente viziato da un difetto metodologico, perché permette di “assolvere” i vaccini tutte le volte che si trovano presunte “altre cause”, mentre, allo stesso tempo, i decessi per Covid-19 vengono sistematicamente riconosciuti nelle stesse condizioni.

### **Due pesi e due misure.**

Questo criterio è fonte di molteplici errori se la cosiddetta “altra causa” è una malattia che potrebbe essere peggiorata dal vaccino, cioè se esiste un'interazione tra vaccino e patologia sottostante. Tale interazione non è un'eccezione ma piuttosto una regola quando si tratta di malattie infiammatorie e del sistema immunitario. Nel caso dei vaccini anti-COVID 19, esiste un problema in più, legato al fatto che essi possono provocare disturbi del sistema cardiovascolare e della coagulazione per un meccanismo che

---

<sup>80</sup> <https://www.aifa.gov.it/-/quarto-rapporto-aifa-sulla-sorveglianza-dei-vaccini-covid-19>;  
[https://www.aifa.gov.it/documents/20142/1315190/Rapporto\\_sorveglianza\\_vaccini\\_COVID-19\\_4.pdf](https://www.aifa.gov.it/documents/20142/1315190/Rapporto_sorveglianza_vaccini_COVID-19_4.pdf)

<sup>81</sup> <https://f1000research.com/articles/9-170/v2>

è stato spiegato in un lavoro recente<sup>82</sup>, pubblicato su EC Pharmacology and Toxicology, dal titolo “Renin-Angiotensin System, SARS-CoV-2 and Hypotheses about Adverse Effects Following Vaccination”.

---

<sup>82</sup> <https://www.econicon.com/ecpt/pdf/ECPT-09-00592.pdf>

## PARTE QUINTA

### BASSO RISCHIO DI MALATTIA DA CORONAVIRUS (COVID-19) TRA I PAZIENTI ESPOSTI A PERSONALE SANITARIO INFETTO

*Questo paragrafo prende spunto dall'articolo "Low Risk of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Among Patients Exposed to Infected Healthcare Workers", di Meghan A. Baker et al<sup>83</sup>.*

L'Italia è il primo (e ad oggi unico) Paese Europeo ad avere introdotto l'obbligo vaccinale per i sanitari (e molti ventilano con insistenza l'estensione dell'obbligo, se non si raggiungeranno coperture sufficienti per l'immunità di gregge). È lecito chiedersi se una decisione così importante sia stata presa dopo un ampio e approfondito dibattito scientifico e con solidi argomenti evidence based.

Dove sono le prove quindi?! Proviamo a cercarle!

Dal 1° marzo al 10 giugno 2020 un grande ospedale di Boston ha attuato un contact-tracing per tutti i pazienti e sanitari testati positivi. Si definiva esposizione  $\geq 10$  minuti cumulativi faccia-a-faccia a distanza  $< 6$  piedi (poco meno di 2 metri), in cui almeno uno dei due non indossasse la mascherina. I 226 pazienti esposti sono stati testati e isolati 14 giorni chiedendo di riferire ogni nuovo sintomo, poi rivalutati e considerati infettati dal sanitario se positivi al test.

In 1 esposizione su 3 né sanitario né paziente indossavano una maschera, nelle altre la indossava solo il sanitario. C'è stata solo 1 infezione (e paziente e sanitario erano senza maschera) 0,4% dei pazienti esposti; oggi con mascherine obbligatorie le infezioni sarebbero ancor meno.

Gli autori dello studio concludono che i risultati sono coerenti con la letteratura, in cui il rischio di trasmissione è strettamente legato, tra l'altro, a durata e intimità del contatto.

Il rischio è:

- di gran lunga maggiore tra familiari/conviventi (10-40%)
- intermedio tra compagni di viaggio (che possono stare a lungo fianco a fianco conversando...) e tra chi condivide pasti (5-15%)
- basso/molto basso a seguito di brevi incontri con estranei;
- trascurabile all'aperto (0,1% secondo un recente studio irlandese, e ancor minore in una ricerca cinese, che ha identificato 1 solo caso all'aperto su 7.324 trasmissioni).

Il rischio di trasmissione è dunque molto basso anche da sanitari a pazienti, come si deve concludere fino a prova contraria, dopo questo che – a conoscenza degli autori – è il 1° studio a quantificare il rischio da sanitari a paziente.

---

83

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32856692/#:~:text=We%20characterized%20the%20risk%20of,to%20patients%20is%20generally%20low>

## **Vediamo lo studio in alcuni dettagli.**

### **Il metodo dello studio**

Quantificare il rischio per i pazienti della sindrome respiratoria acuta grave coronavirus<sup>84</sup> (SARS-CoV-2) a seguito di un'esposizione a un operatore sanitario infetto è essenziale per informare il processo decisionale dei pazienti e costruire la fiducia nella sicurezza delle cure mediche.

Il rischio di trasmissione nelle strutture sanitarie può essere diverso dal rischio nella comunità a causa delle differenze nei modi in cui i pazienti e i sanitari interagiscono rispetto alle situazioni generali dei contatti negli ambienti "normali".

Questo ha a che fare con i protocolli di screening, l'uso di precauzioni standard, l'uso della mascherina, l'utilizzo di ulteriori dispositivi di protezione personale aggiuntivi, la qualità della ventilazione e dei ricambi d'aria, l'igiene delle mani e la pulizia di routine con disinfettanti efficaci<sup>85</sup>.

Si è caratterizzato il rischio di infezione tra i pazienti esposti agli operatori sanitari che sono stati successivamente diagnosticati con COVID-19 in un centro medico accademico di Boston, dal 1° marzo 2020 al 10 giugno 2020.

Sono stati identificati tutti i pazienti potenzialmente esposti ad ogni caso di COVID-19 a partire dalla data di insorgenza dei sintomi e continuando fino all'ultimo giorno di esposizione; il 4 aprile 2020 è stato modificato il protocollo per includere anche i pazienti esposti nelle 48 ore precedenti l'insorgenza dei sintomi come previsto dalle procedure in continua evoluzione in quel periodo.

Un'esposizione è stata definita come "10 o più minuti cumulativi di contatto faccia a faccia entro i due metri circa (6 piedi), durante i quali almeno una persona non indossava una mascherina.

Tutti i pazienti esposti sono stati informati della loro esposizione e valutati per i sintomi manifestati, tra cui tosse, mancanza di respiro, febbre, brividi, dolori muscolari, mal di gola, e/o perdita del gusto o dell'olfatto. Durante i primi due mesi del periodo di studio, tutti i pazienti sintomatici sono stati sottoposti ai test PCR. A partire dall'11 maggio 2020 sono stati indirizzati al test PCR tutti i pazienti indipendentemente dallo stato dei sintomi in conformità con gli aggiornamenti delle procedure governative.

Ai pazienti esposti è stato quindi chiesto di auto-isolarsi per 14 giorni dopo la loro esposizione e di riferire qualsiasi nuovo sintomo. Alla fine del periodo di follow-up di 14 giorni, tutti i pazienti sono stati rivalutati.

I pazienti che non è stato possibile contattare entro 2 giorni dalla fine del loro periodo di incubazione sono stati considerati persi al follow-up.

La politica dell'ospedale inizialmente richiedeva solo agli operatori sanitari di indossare i sistemi di protezione personale quando entravano in contatto con pazienti con sintomi relativi al COVID-19; tuttavia l'obbligo di indossare la mascherina per il personale sanitario è stato annunciato solo il 22 marzo 2020 e richiesto a partire dal 25 marzo 2020.

L'obbligo di indossare la mascherina per i pazienti è stato implementato il 6 aprile 2020.

---

<sup>84</sup> Lange SJ, Ritchey MD, Goodman AB, et al. Potential indirect effects of the COVID-19 pandemic on use of emergency departments for acute life-threatening conditions—United States, January–May 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2020; 69:795–800.

<sup>85</sup> Cheng H, Jian S, Liu D, et al. Contact tracing assessment of COVID-19 transmission dynamics in Taiwan and risk at different exposure periods before and after symptom onset. *JAMA Intern Med* 2020; 180:1156–63. doi: 10.1001/jamainternmed.2020.2020.

Laddove le informazioni sull'uso della mascherina per l'operatore sanitario non erano disponibili, abbiamo ipotizzato che gli operatori sanitari non indossassero una maschera prima che le procedure ufficiali venissero messe in pratica.

### **I risultati dello studio**

Tra il 1° marzo 2020 e il 10 giugno 2020,

- 238 pazienti hanno soddisfatto i criteri di esposizione;
- tutte le esposizioni erano a personale sanitario infetto (n = 60), e nessuna era dovuta a esposizioni da paziente a paziente;
- dei 238 pazienti esposti, 137 (58%) erano donne e 80 (34%) avevano un'età pari o superiore ai 65 anni;
- un quarto delle esposizioni (60/238) si è verificato in ambito ambulatoriale o d'emergenza, mentre il resto è avvenuto in ambiente di ricovero;
- 15 pazienti sono stati esposti due volte; quindi, ci sono state complessivamente 253 esposizioni;
- tra i 60 operatori sanitari infetti, c'erano 35 infermieri, 12 medici, 7 assistenti alla cura dei pazienti, 2 assistenti medici e 6 assistenti generici (fisioterapisti, ecografi, ecc.);
- Su 87 esposizioni, né il sanitario infetto né il paziente esposto indossavano una mascherina, e in 166 esposizioni, solo l'operatore sanitario infetto la indossava;
- Il follow-up a 14 giorni dall'esposizione era disponibile per 226 delle 253 esposizioni (89%). I test sono stati eseguiti dopo 92 delle 253 esposizioni;
- Solo 2 pazienti sono risultati positivi alla SARS-CoV-2.

Il primo è stato esposto a un medico per 30 minuti durante una visita ambulatoriale il giorno in cui sono iniziati i sintomi del medico; né paziente né il medico indossavano la mascherina.

Un secondo paziente è risultato positivo 6 giorni dopo l'esposizione a un'infermiera per più di 10 minuti nell'ambiente peri-operatorio; solo l'infermiera indossava la mascherina. Tuttavia, questo paziente aveva anche un contatto intimo che è risultato positivo lo stesso giorno in cui è stato esposto all'operatore sanitario infetto. Considerando che il paziente è stato esposto al suo familiare prima di essere stato esposto all'operatore sanitario infetto e che il più alto rischio di trasmissione si verifica tra i contatti familiari, si è deciso di rigettare la correlazione in questo caso.

Nessuno dei due pazienti era stato testato prima dell'esposizione.

Altri 37 pazienti esposti hanno sviluppato sintomi; 34 su 37 sono stati testati e tutti erano negativi.

Tra i 3 pazienti che non sono stati testati, 2 sono stati valutati in centri medici esterni e non corrispondevano alle caratteristiche idonee (sintomatologia) per essere sottoposti al test.

Degli ulteriori 187 pazienti che non hanno sviluppato sintomi, 54 sono stati comunque testati e tutti hanno avuto risultati negativi.

Cinque pazienti sono morti prima dei 14 giorni, periodo di follow-up: 2 di questi sono stati testati e sono risultati negativi. Le morti degli altri 3 pazienti sono state attribuite alla loro condizione clinica molto seria: cancro (2 pazienti) e insufficienza cardiaca progressiva (1 paziente). I sanitari che li avevano in cura non hanno notato sintomi coerenti con COVID-19 prima della loro morte.

Infine, 22 pazienti sono stati persi al follow-up prima della fine del periodo di incubazione di 14 giorni.

Delle 226 esposizioni con follow-up completo, si è stati in grado di documentare solo UNA infezione confermata da SARS-CoV-2, attribuibile all'esposizione (**ovvero nello 0,4% dei casi**).

### **La discussione sullo studio**

L'unico evento di possibile contagio documentato si è verificato prima dell'implementazione dell'obbligo di indossare la mascherina nei contatti fra pazienti e sanitari: quindi il rischio per il paziente, attualmente, potrebbe essere ancora più basso.

Questa valutazione fornisce dati rassicuranti ai pazienti e ai loro sanitari, documentando che il rischio per i primi di ammalarsi di COVID-19 in seguito ad un contatto con un operatore sanitario infetto è molto basso.

Il rischio di trasmissione è strettamente legato alla durata e all'intimità del contatto, e probabilmente varia in base sulla carica virale, i sintomi, l'uso della mascherina, la vicinanza, la durata del contatto, la qualità della ventilazione.

Il rischio è più alto nei membri della famiglia (10-40%), intermedio tra partner di viaggio e individui che condividono un pasto (5-15%), e basso in seguito a brevi incontri con estranei (<1%)<sup>86</sup>.

Allo stesso modo, il rischio di trasmissione da pazienti infetti a operatori sanitari è anche basso (<3%)<sup>87</sup>, ma questo è il primo studio, a conoscenza degli autori, che documenta un rischio altrettanto basso per pazienti esposti a operatori sanitari infetti.

In particolare, più del 50% delle esposizioni si è verificato in casi in cui l'operatore sanitario infetto indossava una mascherina ma non il paziente. Il basso rischio di trasmissione in questo contesto è quindi rassicurante.

È stato documentato in un'analisi separata che l'incidenza di COVID-19 acquisita in ospedale nella stessa struttura ospedaliera, durante lo stesso periodo, era estremamente bassa<sup>88</sup>.

Fin qui lo studio preso in considerazione.

Se aggiungiamo il fatto che i casi di contagio fra i sanitari vaccinati sono all'ordine del giorno<sup>89</sup>, la domanda che ci si deve porre è se la scelta politica di obbligarli a vaccinarsi abbia un senso o meno nell'ottica di contenere il contagio in ambito ospedaliero (quanto meno).

---

<sup>86</sup> Cheng H, Jian S, Liu D, et al. Contact tracing assessment of COVID-19 transmission dynamics in Taiwan and risk at different exposure periods before and after symptom onset. *JAMA Intern Med* 2020; 180:1156–63. doi: 10.1001/jamainternmed.2020.2020.

Jing QL, Zhang ZB, Fang LQ, et al. Household secondary attack rate of COVID-19 and associated determinants in Guangzhou, China: a retrospective cohort study. *Lancet Infect Dis* 2020. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30471-0.

Rosenberg ES, Dufort EM, Blog DS, et al; New York State Coronavirus 2019 Response Team. COVID-19 testing, epidemic features, hospital outcomes, and household prevalence, New York State—March 2020. *Clin Infect Dis* 2020. doi:10.1093/cid/ciaa549.

Chen Y, Wang AH, Yi B, et al. [Epidemiological characteristics of infection in COVID-19 close contacts in Ningbo city.] *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi* 2020; 41:667–71.

<sup>87</sup> Heinzerling A, Stuckey MJ, Scheuer T, et al. Transmission of COVID-19 to health care personnel during exposures to a hospitalized patient—Solano County, California, February 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2020; 69:472–6.

Ng K, Poon BH, Kiat Puar TH, et al. COVID-19 and the risk to health care workers: a case report. *Ann Intern Med* 2020; 172:766–7.

Baker MA, Rhee C, Fiumara K, et al. COVID-19 infections among healthcare workers exposed to a patient with a delayed diagnosis of COVID-19. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2020. doi: 10.1017/ice.2020.256.

<sup>88</sup> Rhee C, Baker M, Vaidya V, et al. Incidence of nosocomial COVID-19 in patients hospitalized at a large US academic medical center. *JAMA Netw Open* 2020; 3:e2020498. doi:10.1001/jamanetworkopen.2020.20498.

<sup>89</sup> <https://www.agi.it/cronaca/news/2021-05-05/allarme-operatori-sanitari-vaccinati-ricontagiano-covid-12428834/?fbclid=IwAR0U8KGh0dyrbJuOk6O1zLnZr47Fbd44F99gjc7-epc91uYeGQhi2Nk2Ebg>

## PARTE SESTA

### CASE FATALITY RATE

Esistono tre indici che misurano tre cose diverse, ma spesso vengono confusi o indicati come se volessero esprimere lo stesso concetto.

- **Crude Mortality Rate** - rappresenta il numero di morti causato dalla malattia diviso per il numero totale della popolazione di riferimento. Misura quindi la probabilità che ciascun individuo, all'interno di quella popolazione, possa morire di questa malattia;
- **Infection Fatality Rate** – è il numero di morti causato dalla malattia diviso il numero totale di casi (che in genere è sconosciuto, o perlomeno è sempre in difetto perché non è possibile indagare l'evento in tutta la popolazione);
- **Case Fatality Rate** – è il rapporto tra le morti confermate e i casi confermati per quella determinata malattia. È importante notare che è il rapporto tra il numero di decessi confermati dalla malattia e il numero di casi confermati, non i casi totali. Ciò significa che **non rappresenta un vero e proprio RISCHIO** per una persona infetta.

Il CFR non è una costante ma dipende dal contesto. Riflette la gravità della malattia in un particolare contesto, in un particolare momento e in una particolare popolazione.

La probabilità che qualcuno muoia della malattia non dipende solo dalla malattia stessa ma anche dal trattamento che ha ricevuto e dall'abilità del paziente stesso di rimettersi da questa.

<https://ourworldindata.org/covid-mortality-risk>

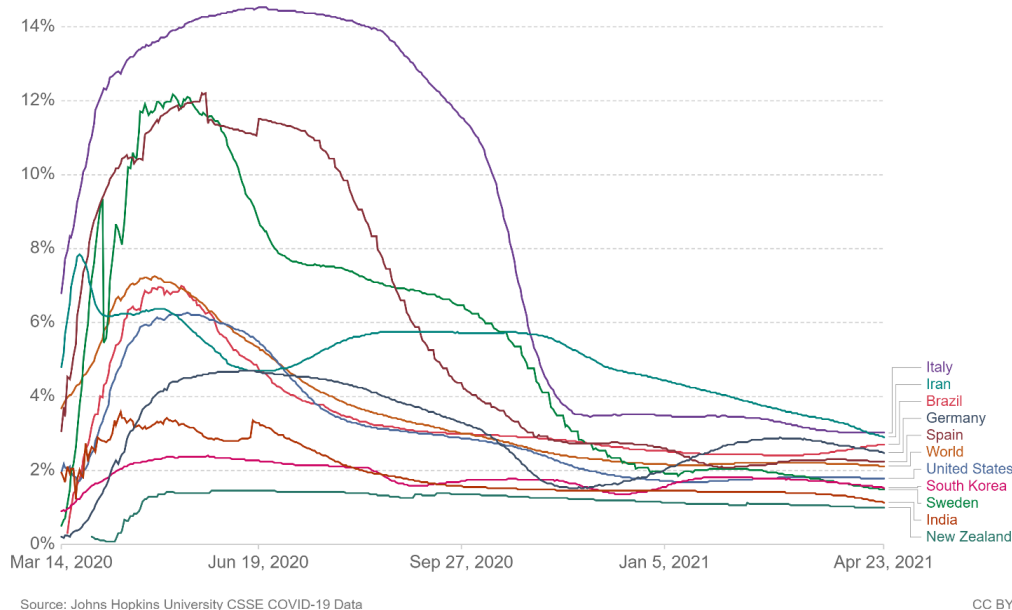
Ci sono due importanti motivi per cui il CFR non riflette il rischio di morte:

- Quando si è in presenza di una malattia non diagnosticata, l'indice SOVRASTIMA il rischio di morte. In questa situazione ci sono MOLTI casi di mancata diagnosi: è il caso del Covid-19 in questo anno e mezzo, in quanto non tutta la popolazione è stata testata, quindi il numero dei casi reali è maggiore del numero dei casi confermati.  
***Esempio:** immaginiamo 10 morti e 100 casi confermati. Il CFR in questo caso è del 10% ma se ci fossero 500 casi totali, il rischio reale sarebbe del 2%. Considerare la giusta popolazione di riferimento è FONDAMENTALE, per poter calcolare il VERO rischio.*
- Al contrario, nel caso ci siano tante persone che sono molto malate ma non sono ancora morte stiamo sottostimando il rischio.

In questo grafico possiamo vedere l'andamento del CFR di alcuni paesi a confronto: si nota che l'Italia ha quasi sempre dei valori superiori agli altri:

## Case fatality rate of the ongoing COVID-19 pandemic

The Case Fatality Rate (CFR) is the ratio between confirmed deaths and confirmed cases. During an outbreak of a pandemic the CFR is a poor measure of the mortality risk of the disease. We explain this in detail at [OurWorldInData.org/Coronavirus](https://ourworldindata.org/coronavirus)



**Fig. 3:** andamento del CFR in diverse nazioni

In questa pubblicazione<sup>90</sup> si evidenzia come al 16 marzo 2020 la stima del CFR in Italia era del 7.7% mentre in Germania dello 0.2%.

Al 24 aprile, sempre in Italia, l'indice si attesta al 3.02%.

Perché questa grande differenza? Proviamo ad analizzare la cosa.

È evidente per ogni paese una variazione significativa del CFR nel tempo, il che suggerisce una notevole incertezza sull'affidabilità dei tassi di mortalità. Come mai?

Lo studio "Global Covid-19 Case Fatality Rates"<sup>91</sup> del marzo 2021, mette in evidenza i seguenti punti:

- Ritardi tra l'insorgenza dei sintomi e la morte che possono portare a una sottostima del CFR;
- Fattori che spiegano l'aumento dei tassi di mortalità come co-infezione, assistenza sanitaria inadeguata, dati demografici dei pazienti (ad es. i pazienti più anziani potrebbero essere in numero maggiore);
- Differenze nel modo in cui le morti sono attribuite al Coronavirus: morire con la malattia (associazione) non è la stessa cosa che morire per la malattia (causalità).

E perchè in Italia il CFR è così alto? Vengono considerate differenti ragioni tra cui la notevole presenza di persone anziane (siamo in secondo stato più vecchio nel mondo), il più alto tasso di morti per resistenza agli antibiotici in Europa: circa 1/3 dei morti in Europa sono italiani<sup>92</sup>.

Inoltre, viene messo in dubbio come vengono conteggiate le morti<sup>93</sup>: coloro che sono morti in ospedale CON coronavirus sono stati inclusi nel conteggio delle morti, una inesattezza significativa che mette in discussione TUTTI i nostri numeri e di conseguenza gli indici.

<sup>90</sup> Lazerini, M., & Putoto, G. (2020). COVID-19 in Italy: momentous decisions and many uncertainties. The Lancet Global Health.)

<sup>91</sup> <https://www.cebm.net/covid-19/global-covid-19-case-fatality-rates/>

<sup>92</sup> [https://www.ansa.it/english/news/science\\_tecnology/2019/11/19/italy-top-in-eu-in-antibiotic-resistance\\_369e0123-0107-445e-8c17-f11932c9d27c.html](https://www.ansa.it/english/news/science_tecnology/2019/11/19/italy-top-in-eu-in-antibiotic-resistance_369e0123-0107-445e-8c17-f11932c9d27c.html)



Il professor Walter Ricciardi, consigliere scientifico del ministro della Salute italiano, riferisce:

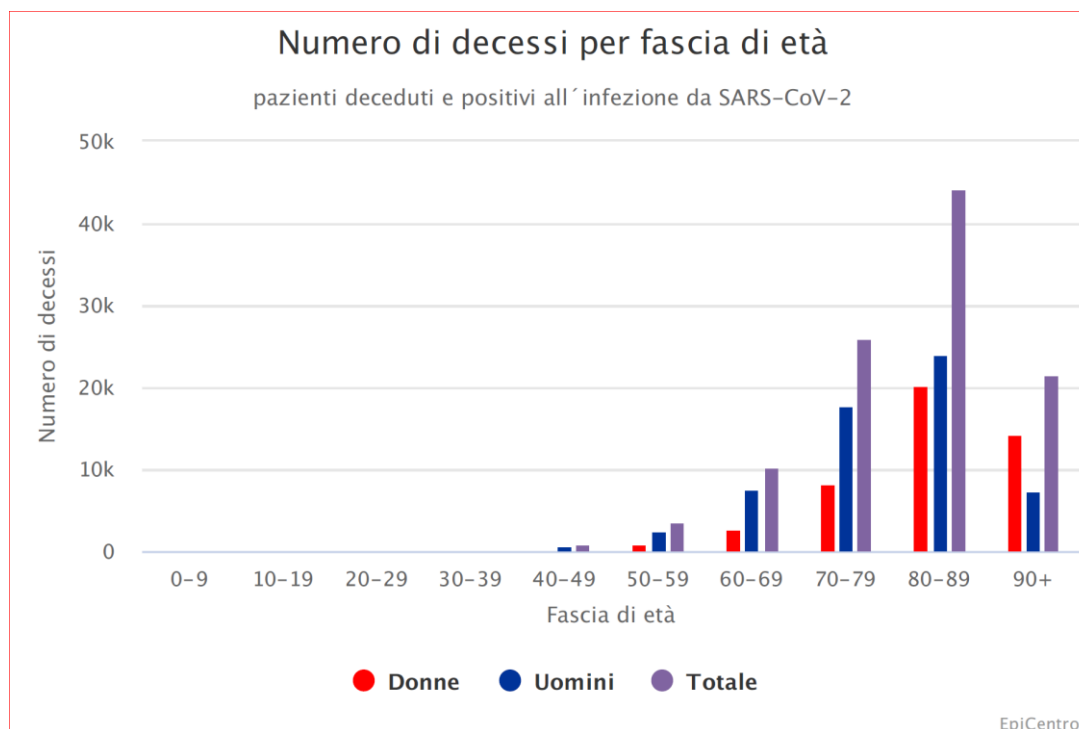
*"Sulla rivalutazione dell'Istituto Superiore di Sanità, solo il 12% dei certificati di morte ha mostrato una causalità diretta da coronavirus, mentre l'88% dei pazienti deceduti lo ha almeno una pre-morbilità, molte ne avevano due o tre."*

La registrazione del numero di coloro che muoiono con il Coronavirus contribuirà a far aumentare l'indice CFR rispetto ad una più corretta valutazione autoptica che possa constatare veramente un decesso causato dal Coronavirus.

Come dimostra l'analisi condotta da Epicentro nel documento "Caratteristiche dei pazienti deceduti positivi all'infezione da SARS-CoV-2 in Italia"<sup>94</sup> e di cui riportiamo il grafico riassuntivo sotto, l'età media dei pazienti deceduti e positivi a SARS-CoV-2 è di 81 anni. L'età mediana dei pazienti deceduti positivi a SARS-CoV-2 è più alta di oltre 30 anni rispetto a quella dei pazienti che hanno contratto l'infezione (età mediane: pazienti deceduti 82 anni, pazienti con infezione 47 anni).

Nella Circolare Ministero 0017948-26/04/2021-DGPRES-MDS-A<sup>95</sup> si legge:

***"In un'elevata percentuale di casi, specie nei soggetti più giovani, l'infezione è del tutto asintomatica. Nei casi sintomatici, questa fase si caratterizza clinicamente per la presenza di malessere generale, febbre e tosse secca. I casi in cui il sistema immunitario dell'ospite riesce a bloccare l'infezione in questo stadio (la maggior parte) hanno un decorso assolutamente benigno;"***



**Fig 4:** distribuzione per fasce di età per i pazienti deceduti positivi all'infezione da SARS-CoV-2 in Italia

Per quanto riguarda i decessi per SARS-CoV-2 di età inferiore ai 50 anni, al 30 marzo 2021 sono 1.188.

In particolare, 282 avevano meno di 40 anni (172 uomini e 110 donne con età compresa tra 0 e 39 anni). Di 80 pazienti di età inferiore a 40 anni non sono disponibili informazioni cliniche; degli altri pazienti, 164

<sup>93</sup> <https://www.stuff.co.nz/national/health/coronavirus/120443722/coronavirus-is-covid19-really-the-cause-of-all-the-fatalities-in-italy>

<sup>94</sup> <https://www.epicentro.iss.it/coronavirus/sars-cov-2-decessi-italia>

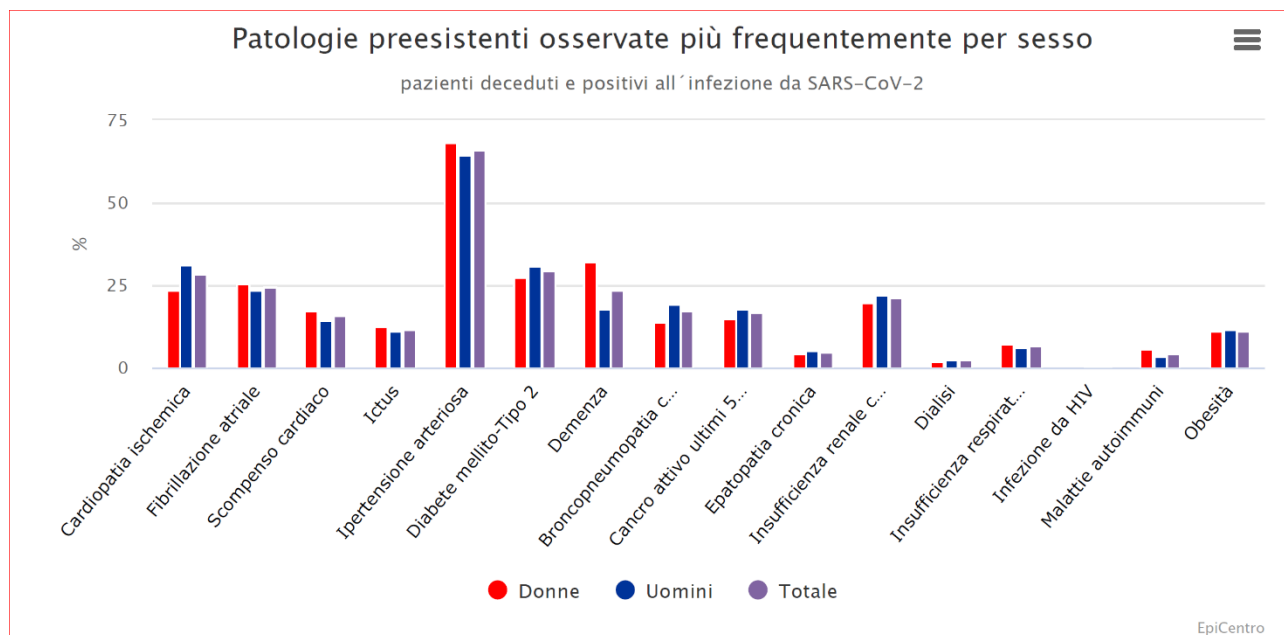
<sup>95</sup> <https://www.seremi.it/sites/default/files/17948-2.pdf>

presentavano gravi patologie preesistenti (patologie cardiovascolari, renali, psichiatriche, diabete, obesità) e 38 non avevano diagnosticate patologie di particolare rilevanza.

L'analisi sulle patologie preesistenti è stata fatta su un campione di 6.992 deceduti.

Le più comuni patologie croniche preesistenti nei pazienti deceduti distinte per uomini (n=4.166) e donne (n=2.826).

Nelle donne il numero medio di patologie osservate è di 3,8 (mediana 4, Deviazione Standard 2,0). Negli uomini il numero medio di patologie osservate è di 3,5 (mediana 3, Deviazione Standard 2,1).



**Fig. 5:** Analisi sulle patologie preesistenti per i pazienti deceduti positivi all'infezione da SARS-CoV-2 in Italia

## CONCLUSIONI

È probabile che il farmaco protegga chi vi è assoggettato da Covid-19 sintomatica, ma NON preserva lo stato di salute degli altri.

È probabile che il farmaco possa incidere negativamente sullo stato di salute di colui che vi è assoggettato, e NON SOLO per quelle sole conseguenze, che, per la loro temporaneità e scarsa entità, appaiano normali di ogni intervento sanitario e, pertanto, tollerabili. Tanto è vero che in nessun altro paese occidentale è stata contemplata l'obbligatorietà della somministrazione di questi farmaci in sperimentazione.

L'ampio margine di incertezza sull'efficacia, e soprattutto sul rischio, connessi alla somministrazione di questi "vaccini", dipende anche dal carattere innovativo delle tecnologie utilizzate per la loro produzione.

Alla luce di tutti i rilievi sopra esposti e in particolare considerando il carattere sperimentale dei cosiddetti "vaccini" anti Sars-Cov-2 in relazione al principio-guida di precauzione, appare evidente come l'obbligo vaccinale introdotto tramite decretazione d'urgenza non possa che scontrarsi – oltre che con le fonti sopraordinate e coi principi fondamentali dell'ordinamento – con irrinunciabili motivi di coscienza, tali da non ammettere di essere elusi o misconosciuti dall'istituzione e tali da essere in grado di fondare, per la loro rilevanza oggettiva, un interesse giuridicamente tutelato in capo a chiunque intenda farsene portatore al fine di evitare di sottoporsi alla somministrazione del farmaco o (eventualmente) di inocularlo a terzi.

Le ragioni, di ordine morale o filosofico, che legittima il diritto di sottrarsi al comando normativo appaiono invero inconfutabili.

Se infatti l'obiezione prevista per la sperimentazione sugli animali fa leva sulla esigenza morale di non contribuire a ridurre questi a meri strumenti materiali, a maggior ragione tale esigenza vale per l'uomo, chiamato a mantenere in ogni caso la propria dignità di essere superiore moralmente razionale: la protesta degli operatori sanitari poggia quindi su ragioni inoppugnabili di difesa della dignità umana propria, e di chiunque sia indotto ad assumere un ruolo di cavia inconsapevole in ciò che si configura come un vero e proprio procedimento di sperimentazione di massa.

Ridurre un qualunque essere umano ad oggetto di sperimentazione, travalicando la sua volontà libera, attuale e informata, significa reificarlo e segnare in tal modo un salto di qualità incommensurabile anche a fronte dell'uso delle cavie animali; tale da profanare quella bandiera della dignità umana che sventola da decenni in tutte le carte, interne e sovranazionali, dei diritti inalienabili.

**Alla luce di tutto quanto sopra esposto, NON VI SONO I PRESUPPOSTI PER L'APPLICABILITÀ DELL'OBBLIGO VACCINALE DI CUI AL COMMA 1 del Decreto-legge 1° aprile 2021, n. 44 e successiva conversione in legge 28 maggio 2021, n. 76.**

## ALLEGATO 1: PROTEINA SPIKE DEL VACCINO A MRNA, SINCITINE UMANE E SOPPRESSIONE DELLA FERTILITÀ

L'articolo in questione [1, 2] mette in forte correlazione le sincitine umane con la proteina spike di Sars-Cov-2. Questo tipo di similitudine molecolare potrebbe determinare, nel tempo, disturbi sulla fertilità.

I vaccini COVID-19 trasportano la proteina spike (*S* o "*Spike*") del virus **SARS-CoV-2** come presunto antigene per attivare la risposta immunitaria, **che condivide un'elevata somiglianza genetica e proteica con due proteine umane, Sincitina-1 e Sincitina-2.**

**Le sincitine umane** sono il prodotto dell'espressione dei geni dell'involucro (*Env*) dei retrovirus endogeni umani (*HERV*): **sono proteine che mediano la fusione tra le cellule e hanno proprietà immunosoppressive.**

*Le sincitine sono espresse fisiologicamente durante la gravidanza: intervengono nello sviluppo della placenta, nel differenziamento dei trofoblasti, nell'impianto dell'embrione nell'utero materno e nell'immunosoppressione del sistema immunitario della madre per prevenire il rigetto allogenico dell'embrione.*

**A causa della somiglianza tra le sincitine e la proteina spike di SARS-CoV-2, le risposte anticorpali indotte dal vaccino COVID-19 potrebbero innescare una reazione crociata contro le sincitine, causando effetti collaterali allergici, citotossici e/o autoimmuni che interessano la salute umana e la riproduzione.**

**I vaccini a mRNA hanno il potenziale per modificare il DNA umano mediante il meccanismo del silenziamento genico (\*) mediato dall'RNA di interferenza. Il gene della sincitina potrebbe essere messo a tacere utilizzando inibitori oligonucleotidici antisense. Quando l'mRNA o la quantità di proteina sincitina diminuisce, si verificano gravi difetti nella placenta, scarsa differenziazione del trofoblasto umano e disfunzione vascolare placentare, con conseguente perdita della gestazione.**

*(\*) L'inibizione dell'espressione di un gene viene detta silenziamento genico o knock down. È possibile silenziare uno specifico gene all'interno del genoma grazie alla tecnologia dell'interferenza a RNA (RNA interference, RNAi).*

Il fenomeno è stato osservato in differenti organismi (da protozoi a mammiferi), conservatosi durante l'evoluzione come meccanismo di difesa contro i virus. L'RNAi è un processo naturale usato dalle cellule per regolare l'espressione genica. La cellula esprime RNA che non servono a codificare proteine, ma che sono processati da una serie di enzimi per generare dei corti RNA (20-30 nt) detti siRNA (small interfering RNA, piccoli RNA interferenti). Ciascun siRNA è complementare alla sequenza di un mRNA. Il suo appaiamento porta alla degradazione specifica dell'mRNA prima che venga tradotto.

Le strategie di terapia genica si basano sulla possibilità di inserire le informazioni per la codifica della proteina funzionante attraverso l'utilizzo di un vettore di tipo virale in grado di integrare nel genoma del paziente l'informazione corretta.

**La Sincitina-1 è la proteina dell'involucro del retrovirus umano endogeno W (*HERV-W*), la cui funzione è necessaria durante la gravidanza per permettere lo sviluppo della placenta e la differenziazione del trofoblasto [3], poiché interviene nella fusione delle cellule placentari e consente l'impianto dell'embrione nell'utero materno [4].**

**La Sincitina-2 è la proteina dell'involucro di un altro membro della famiglia HERV (*HERV-FRD*) ed è anche altamente espressa nella placenta umana [5]. Sebbene entrambe le sincitine 1 e 2 siano proteine che mediano la fusione cellula-cellula dei citotrofi per consentire la formazione dello strato multinucleato del sincizio-trofoblasto durante lo sviluppo placentare, **Sincitina-2 (ma non Sincitina-1) ha proprietà aggiuntive, e cioè un'attività immunosoppressiva che rende il feto invisibile al sistema immunitario della madre,****

**prevenendo così il rigetto allogeneico, poiché l'embrione è un essere umano unico e irripetibile, geneticamente diverso dalla madre.**

**La somiglianza tra la struttura delle sincitine e la proteina S di SARS-Cov-2 è davvero sorprendente.** La proteina delle sincitine mature (*proteina dell'involucro, Env, dei retrovirus umani endogeni, HERV*) è costituita da un trizio di eterodimeri di due subunità, S1 e S2, legate da un legame disolfuro labile tra le due catene, che viene scisso da Furine dopo essersi legato al recettore S1 [7, 8, 9].

La struttura delle sincitine è la stessa descritta per la proteina SARS-CoV-2 S. La subunità S1 dello spike si lega al recettore e quindi la separazione tra i due – il taglio effettuato dall'enzima Furine dalle subunità S1 e S2 – consente al virus di entrare nelle cellule [10].

È interessante notare che il virus SARS-CoV-2 ha anche sequenze identiche alle sincitine che gli conferiscono attività immunosoppressiva [11], con cui il virus riesce a rendersi "invisibile" al sistema immunitario della persona infetta.

La reazione che si verrebbe a creare nell'ambito della inattivazione delle sincitine è quella documentata ormai da anni e che prende il nome di "mimetismo molecolare" che contempla la presenza di omologie di sequenza in comune fra due molecole, anche biologicamente diverse l'una dall'altra.

*Non sappiamo ancora se gli anticorpi generati dall'azione della vaccinazione COVID-19 possano reagire in modo crociato con le sincitine. Se gli anticorpi contro SARS-COV-2 riconoscessero le sincitine umane, queste proteine sarebbero bloccate e neutralizzate dagli anticorpi, rendendole così incapaci di svolgere la loro funzione di fusione dei citotrofoblasti fetali, che svolgono un ruolo chiave sia nel processo di impianto dell'embrione che di sviluppo placentare. Il risultato sarebbe un aborto spontaneo dell'embrione nelle donne vaccinate, poiché il processo di differenziazione e nidificazione nell'utero materno è impedito da un'inibizione diretta delle sincitine da parte degli anticorpi indotti dall'immunizzazione artificiale con uno qualsiasi dei vaccini COVID-19 sperimentali.*

Infatti, questa affermazione è supportata dall'osservazione che l'espressione della sincitina ricombinante in un'ampia varietà di tipi cellulari induce la formazione di sinciti giganti e la fusione di una linea cellulare trofoblastica umana che esprime sincitina endogena può essere inibita da un antisiero antisintetico. **Un anticorpo policlonale di coniglio prodotto contro una miscela di peptici Env-W è stato in grado di inibire la fusione cellulare in vitro mediata dalle sincitine umane** [12].

*Con la stessa logica, potremmo aspettarci che anche gli anticorpi diretti contro lo spike possano riconoscere e neutralizzare la Sincitina 2 in modo incrociato, e quindi la sua attività immunosoppressiva potrebbe essere influenzata, lasciando l'embrione esposto al riconoscimento del sistema immunitario della madre, che porterebbe quindi al rigetto immunitario del feto* [13].

**È stato dimostrato che le proteine dell'involucro HERV (HERV-Env), da un lato, attivano sia l'immunità innata che adattativa, provocando reazioni infiammatorie, citotossiche e apoptotiche. D'altra parte, hanno la capacità di prevenire l'attivazione della risposta immunitaria, presentando proprietà immunosoppressive e agendo come immunoregolatori** [14].

*Quando c'è un'elevata somiglianza con i motivi del peptide retrovirale endogeno, il sistema immunitario umano può rilevarlo come un antigene distinto e può innescare una risposta allergica, come quelle che si verificano quando gli apteni (ad esempio la penicillina) si legano alle proteine ospiti* [11].

Con la vaccinazione contro COVID-19, possono essere indotte anche risposte anticorpali di tipo IgE e ipersensibilità di tipo ritardato da parte dei linfociti T, come è stato osservato nei topi, che dopo l'esposizione a un vaccino SARS, hanno causato loro una risposta allergica [15, 16].

In secondo luogo, i vaccini sperimentali contro COVID-19 potrebbero influenzare la fertilità umana perché, i livelli di espressione dell'acido ribonucleico messaggero (mRNA) dalle sincitine, aumentano progressivamente dall'inizio del concepimento, durante il primo trimestre e fino alla fine della gravidanza [17].

Sia la fusione che la differenziazione delle cellule del trofoblasto sono associate ad un concomitante aumento dell'espressione dell'mRNA del gene sincitina (HERV-W env) e della proteina Sincitina. In termini semplici, se la quantità di proteine o mRNA del gene Syncytin diminuisce, si osservano difetti nella formazione della placenta, scarsa differenziazione dei trofoblasti e disfunzione vascolare nella placenta.

È stato dimostrato che i livelli di proteine e di trascrizione del gene sincitina sono significativamente ridotti nelle placenti di donne con ipertensione indotta dalla gravidanza, inclusi i pazienti con pre-eclampsia e ipertensione gestazionale [18].

**Clinicamente, una diminuita espressione e una localizzazione anormale di Sincitin-1 e Sincitina-2 è stata riscontrata nella pre-eclampsia, un disturbo della gravidanza caratterizzato da difetti nella formazione della placenta, scarsa differenziazione dei trofoblasti e disfunzione vascolare nella placenta.** Ciò significa che l'espressione alterata del gene sincitina e la posizione cellulare alterata del suo prodotto proteico possono contribuire all'eziologia della pre-eclampsia [19]. In altre parole, la ridotta espressione placentare di sincitina può contribuire a processi di fusione cellulare alterati durante la placentogenesi e la funzione placentare alterata nei disturbi ipertensivi della gravidanza [20].

*I vaccini mRNA contro il COVID-19 delle società Moderna, Pfizer/BioNtech e CureVac contengono RNA messaggero della proteina spike, che viene somministrato rivestito con nanoparticelle lipidiche di polietilenglicole al fine di eludere i meccanismi di riconoscimento del corpo e consentire loro di entrare nelle cellule.*

Questa piattaforma di terapia a RNA modificato è totalmente nuova, è una forma sperimentale di inoculazione di geni estranei nel corpo umano che non può essere definita "vaccinazione" poiché non prevede la somministrazione di patogeni attenuati o inattivati come semplici antigeni che stimolano l'immunità. È una sorta di inoculazione nel corpo umano di varianti di geni sintetici iniettabili, in modo che possano penetrare nelle cellule umane e far sì che producano la proteina spike (S) del virus. *Si tratta di un vero esperimento di transgenesi, mai eseguito prima nella storia dell'umanità, per conferire immunità contro malattie infettive-contagiose trasmesse dall'uomo.*

Le aziende di biotecnologia stanno lottando per replicare il fatto che i vaccini a mRNA non hanno la capacità di entrare nel nucleo per modificare il DNA. Spiegano che l'mRNA nel vaccino codificherà solo la glicoproteina spike (S) e la trascriverà semplicemente nel citoplasma cellulare. La capacità di regolare direttamente l'espressione genica è un meccanismo ampiamente riconosciuto dalla biologia molecolare: il silenziamento genico mediato dagli acidi ribonucleici, il cosiddetto RNA inibitorio (iRNA) [22].

*Attraverso il meccanismo del silenziamento genico mediato dall'iRNA, i vaccini a mRNA hanno la capacità potenziale di modificare il DNA umano inducendo o silenziando diversi geni nel nostro genoma. L'RNA di interferenza è un meccanismo fondamentale per controllare il flusso di informazioni genetiche nelle cellule.*

Nel caso specifico delle sincitine, l'uso di inibitori dell'RNA (siRNA e shRNA), cioè l'uso di oligonucleotidi antisense specifici del gene della sincitina, ha già dimostrato che il gene può essere silenziato e che l'inibizione dell'espressione della proteina dell'Env-W porta ad una riduzione della fusione e della differenziazione del trofoblasto umano [3].

Attraverso esperimenti in vivo su animali, sono stati effettuati test sulla perdita di funzionalità nell'utero di pecore mediante iniezione di oligonucleotidi antisense il giorno 8 della gravidanza. Le iniezioni di questi oligonucleotidi hanno bloccato la produzione di proteine dall'involucro del gene ERV nel trofoectoderma delle pecore.

*Il trattamento genico specifico per silenziare l'espressione del gene dell'involucro ERV nelle pecore ha inibito la differenziazione delle cellule trofoblastiche binucleate giganti e ha portato alla perdita della gestazione il 20esimo giorno in tutte le pecore che ricevevano oligonucleotidi antisense [24].*

Va notato che i retrovirus endogeni (ERV) sono abbondanti nei genomi dei vertebrati e svolgono un ruolo fondamentale nella riproduzione dei mammiferi, in particolare nella morfogenesi e nell'impianto placentare, motivo per cui ci si potrebbe aspettare un risultato simile dall'inibizione genica specifica delle

sincitine 1 e 2 negli esseri umani e nei primati [25] e possibilmente dei due geni ENV correlati, sincitina A e sincitina B, nei topi [26].

Gli oligonucleotidi antisenso sono progettati per modulare il trasferimento di informazioni dal gene alla proteina, interferendo con la funzione dell'mRNA o pre-RNA. Ad esempio, sono progettati per inibire specificamente l'espressione dell'mRNA del gene dell'involucro HERV, in modo che inibiscano lo splicing e/o la traduzione dell'mRNA mediante un meccanismo di blocco sterico, che è indipendente dalla RNasi-H. Oltre agli effetti di questi oligonucleotidi inibitori a breve termine, la regolazione genica a lungo termine può essere ottenuta mediante RNA antisenso espresso a livello intracellulare somministrato da vettori virali [27].

*Conoscendo l'elevata omologia che esiste tra la sincitina e la proteina spike del virus SARS-CoV-2 e sapendo che le sequenze oligonucleotidiche che silenziano il gene umano della sincitina hanno un'omologia del 100% con le sequenze del gene spike introdotto nei vaccini, non si può garantire che le iniezioni di mRNA contenute nei vaccini non finiranno per influenzare l'espressione dei geni umani endogeni Syncytin-1 e Syncytin-2.*

Questi aspetti di sicurezza e gli effetti avversi dei vaccini COVID-19 sulla fertilità umana non vengono valutati nelle sperimentazioni precliniche sugli animali, né nelle sperimentazioni cliniche di fase I, II e III già condotte con volontari non adeguatamente informati di tutti i rischi connessi alla vaccinazione [28].

Inoltre, le clausole di riservatezza che sono state concesse dai governi alle aziende che sviluppano questi vaccini non ci consentiranno di sapere se i costrutti che compongono i vaccini vettorizzati codificano un gene spike SARS-CoV-2 e/o un singolo o doppio iRNA a filamento con resistenza alle nucleasi. Pertanto, non possiamo nemmeno sapere con certezza se i vaccini che introducono RNA modificati abbiano funzione iRNA e se possano mirare a siti specifici lungo la trascrizione dell'RNA di un gene, in questo caso, le sincitine umane, a causa dell'elevata somiglianza che condividono nella sequenza.

Per tutti questi motivi, il risultato dell'inoculazione di questi vaccini sperimentali può finire per portare alla produzione di anticorpi "con efficacia del 95%" ma non si può escludere che, come effetto collaterale, possano bloccare la traduzione di un mRNA che codifica per una normale proteina umana. Sappiamo in anticipo che gli oligonucleotidi antisenso resistenti alla RNasi-H forniscono una resistenza completa alle nucleasi, mostrano una buona capacità di targeting, alta efficienza nella cellula e hanno specificità di sequenza [30].

Le aziende che sviluppano questi vaccini non stanno agendo in modo etico o responsabile, perché non stanno conducendo studi di sicurezza nei modelli animali appropriati, né rispettano i tempi necessari per osservare gravi effetti avversi a medio e lungo termine, né stanno fornendo le necessarie informazioni che considerano "riservate". Evitando e improvvisando le fasi di sperimentazione pre-clinica e passando direttamente alle fasi di sperimentazione clinica I, II e III, le aziende stanno spostando il rischio dagli animali all'uomo, utilizzando le persone come modelli di sfida animale.

## **BIBLIOGRAFIA**

1 - Wodarg W. <https://www.wodarg.com/impfen/>

2 - Wodarg W and Yeadon M. Petition to European Medicines Agency Committee for human medicinal products (CHMP) COVID-19 EMA pandemic Task Force (COVID-ETF) Domenico Scarlatti 61083 HS Amsterdam The Netherlands. December 1, 2020. [https://2020news.de/wp-content/uploads/2020/12/Wodarg\\_Yeadon\\_EMA\\_Petition\\_Pfizer\\_Trial\\_FINAL\\_01DEC2020\\_EN\\_unsigned\\_with\\_Exhibits.pdf](https://2020news.de/wp-content/uploads/2020/12/Wodarg_Yeadon_EMA_Petition_Pfizer_Trial_FINAL_01DEC2020_EN_unsigned_with_Exhibits.pdf)

3 - Frenco JL, Olivier D, Cheynet V, Blond JL, Bouton O, Vidaud M, Rabreau M, Evain-Brion D, Mallet F. Direct involvement of HERV-W Env glycoprotein in human trophoblast cell fusion and differentiation. Mol

Cell Biol 2003; 23:3566–3574. PMID: 12724415 PMCID: PMC164757 DOI: 10.1128/mcb.23.10.3566-3574.2003 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC164757/pdf/1493.pdf>

4 - Mi, S., Lee, X., Li, Xp. et al. Syncytin is a captive retroviral envelope protein involved in human placental morphogenesis . Nature 403, 785–789 (2000). PMID: 10693809 DOI: 10.1038/35001608. <https://www.nature.com/articles/35001608>

5 - Blaise S, de Parseval N, Bénit L, Heidmann T. Genomewide screening for fusogenic human endogenous retrovirus envelopes identifies syncytin 2, a gene conserved on primate evolution. Proc Natl Acad Sci U S A. 2003 Oct 28;100(22):13013-8. doi: 10.1073/pnas.2132646100. Epub 2003 Oct 13. PMID: 14557543; PMCID: PMC240736. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC240736/pdf/10013013.pdf>

6 - Mangeney M, Renard M, Schlecht-Louf G, Bouallaga I, Heidmann O, Letzelter C, Richaud A, Ducos B, Heidmann T. Placental syncytins: genetic disjunction between the fusogenic and immunosuppressive activity of retroviral envelope proteins. Proc Natl Acad Sci U S A 2007; 104:20534–20539. PMID: 18077339 PMCID: PMC2154466 DOI: 10.1073/pnas.0707873105. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2154466/pdf/zpq20534.pdf>

7 - Harris JR. Placental endogenous retrovirus (ERV): structural, functional, and evolutionary significance. Bioessays. 1998; 20: 307-316 PMID: 9619102 DOI: 10.1002/(SICI)1521-1878(199804)20:4<307::AID-BIES7>3.0.CO;2-M <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9619102/>

8 - Gong R, Peng X, Kang S, Feng H, Huang J, Zhang W, Lin D, Tien P, Xiao G. Structural characterization of the fusion core in syncytin, envelope protein of human endogenous retrovirus family W. Biochem Biophys Res Commun. 2005 Jun 17;331(4):1193-200. doi: 10.1016/j.bbrc.2005.04.032. PMID: 15883002; PMCID: PMC7092852. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7092852/pdf/main.pdf>

9 - Cheynet V, Ruggieri A, Oriol G, Blond JL, Boson B, Vachot L, Verrier B, Cosset FL, Mallet F. Synthesis, assembly, and processing of the Env ERVWE1/syncytin human endogenous retroviral envelope. J Virol. 2005 May;79(9):5585-93. doi: 10.1128/JVI.79.9.5585-5593.2005. PMID: 15827173; PMCID: PMC1082723. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1082723/pdf/1588-04.pdf>

10 - Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT and Velesler D. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. Cell Volume 181, Issue 2, 16 April 2020, Pages 281-292. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.058>

11 - Gallaher B. Response to nCoV2019 Against Backdrop of Endogenous Retroviruses. <https://virological.org/t/response-to-ncov2019-against-backdrop-of-endogenous-retroviruses/396>

12 - Mi S Xinhua L Xiang-Ping L Geertrudis MV Finnerty H Racie L et al. Syncytin is a captive retroviral envelope protein involved in human placental morphogenesis. Nature. 2000; 403: 785-789 PMID: 10693809 DOI: 10.1038/35001608 <https://www.nature.com/articles/35001608>

13 - Chie-Pein Chen, Liang-Fu Chen, Su-Ray Yang, Chia-Yu Chen, Chun-Chuan Ko, Geen-Dong Chang, Hungwen Chen, Functional Characterization of the Human Placental Fusogenic Membrane Protein Syncytin 2, Biology of Reproduction, Volume 79, Issue 5, 1 November 2008, Pages 815–823, <https://doi.org/10.1095/biolreprod.108.069765>

14 - Grandi N, Tramontano E. HERV Envelope Proteins: Physiological Role and Pathogenic Potential in Cancer and Autoimmunity. Front Microbiol. 2018 Mar 14;9:462. doi: 10.3389/fmicb.2018.00462. PMID: 29593697; PMCID: PMC5861771. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5861771/pdf/fmicb-09-00462.pdf>

15 - Tseng CT, Sbrana E, Iwata-Yoshikawa N, Newman PC, Garron T, Atmar RL, Peters CJ, Couch RB. Immunization with SARS coronavirus vaccines leads to pulmonary immunopathology on challenge with the SARS virus. PLoS One. 2012;7(4): e35421. doi: 10.1371/journal.pone.0035421. PMID: 22536382; PMCID: PMC3335060. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3335060/pdf/pone.0035421.pdf>



- 16 - Bolles M, Deming D, Long K, Agnihothram S, Whitmore A, Ferris M, Funkhouser W, Gralinski L, Totura A, Heise M, Baric RS. A double-inactivated severe acute respiratory syndrome coronavirus vaccine provides incomplete protection in mice and induces increased eosinophilic proinflammatory pulmonary response upon challenge. *J Virol.* 2011 Dec;85(23):12201-15. doi: 10.1128/JVI.06048-11. PMID: 21937658; PMCID: PMC3209347. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3209347/pdf/ziv12201.pdf>
- 17 - Keith JC Jr, Pijnenborg R, Van Assche FA. Placental syncytin expression in normal and preeclamptic pregnancies. *Am J Obstet Gynecol.* 2002 Oct;187(4):1122-3; author reply 1123-4. doi: 10.1067/mob.2002.128512. PMID: 12389018. [https://www.ajog.org/article/S0002-9378\(02\)70072-0/fulltext](https://www.ajog.org/article/S0002-9378(02)70072-0/fulltext)
- 18 - Knerr I, Beinder E, Rascher W. Syncytin, a novel human endogenous retroviral gene in human placenta: evidence for its dysregulation in preeclampsia and HELLP syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 186:210–213. PMID: 11854637 DOI: 10.1067/mob.2002.119636 [https://www.ajog.org/article/S0002-9378\(02\)11228-2/fulltext](https://www.ajog.org/article/S0002-9378(02)11228-2/fulltext)
- 19 - Lee X, Keith JC Jr, Stumm N, Moutsatsos I, McCoy JM, Crum CP, Genest D, Chin D, Ehrenfels C, Pijnenborg R, van Assche FA, Mi S. Downregulation of placental syncytin expression and abnormal protein localization in pre-eclampsia. *Placenta* 2001; 22:808-812. PMID: 11718567 DOI: 10.1053/plac.2001.0722 [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0143-4004\(01\)90722-2](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0143-4004(01)90722-2)
- 20 - Chen CP, Wang KG, Chen CY, Yu C, Chuang HC, Chen H. Altered placental syncytin and its receptor ASCT2 expression in placental development and pre-eclampsia. *BJOG* 2006; 113:152–158. PMID: 16411991 DOI: 10.1111/j.1471-0528.2005.00843.x. <https://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1471-0528.2005.00843.x>
- 21 - Bjerregaard, B., Lemmen, J.G., Petersen, M.R. et al. Syncytin-1 and its receptor is present in human gametes. *J Assist Reprod Genet* 31, 533–539 (2014). <https://doi.org/10.1007/s10815-014-0224-1>
- 22 - Cavagnari BM. Regulación de la expresión génica: cómo operan los mecanismos epigenéticos. Regulation of gene expression: how do epigenetic mechanisms work. *Arch Argent Pediatr* 2012;110(2):132-136. Departamento de Pediatría. Hospital Alemán.Ciudad Autónoma de Buenos Aires : <https://www.sap.org.ar/docs/publicaciones/archivosarg/2012/v110n2a08.pdf>
- 23 - The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2006. NobelPrize.org. <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2006/7474-the-nobel-prize-in-physiology-or-medicine-2006-2006-4/>
- 24 - Dunlap KA, Palmarini M, Varela M, Burghardt RC, Hayashi K, Farmer JL, and Spencer TE. Endogenous retroviruses regulate periimplantation placental growth and differentiation PNAS September 26, 2006 103 (39) 14390-14395; <https://doi.org/10.1073/pnas.0603836103>; <https://www.pnas.org/content/pnas/103/39/14390.full.pdf>
- 25 - Voisset C, Blancher A, Perron H, Mandrand B, Mallet F, Paranhos-Baccala G. Phylogeny of a novel family of human endogenous retrovirus sequences, HERV-W, in humans and other primates. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 1999; 15: 1529-1533(15-19) PMID: 10580403 DOI: 10.1089/088922299309810 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10580403/>
- 26 - Henke C, Ruebner M, Faschingbauer F, et al. Regulation of murine placentogenesis by the retroviral genes Syncytin-A, Syncytin-B and Peg10. *Differentiation; Research in Biological Diversity.* 2013 Apr-Jun;85(4-5):150-160. DOI: 10.1016/j.diff.2013.02.002. <https://europepmc.org/article/med/23807393>
- 27 - Short-term and long-term modulation of gene expression by antisense therapeutics Peter Sazani, Marla M Vacek and Ryszard Kole. *Current Opinion in Biotechnology* Volume 13, Issue 5, 1 October 2002, Pages 468-472. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(02\)00366-X](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(02)00366-X) <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12459339/>

- 28 - Cardozo T and Veazey R. Informed consent disclosure to vaccine trial subjects of risk of COVID-19 vaccines worsening clinical disease. *International Journal of Clinical Practice*, October 28, 2020 DOI: 10.1111/ijcp.13795, <https://doi.org/10.1111/ijcp.13795>  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ijcp.13795>
- 29 - Susanne Rauch, Nicole Roth, Kim Schwendt, et al. mRNA based SARS-CoV-2 vaccine candidate CVnCoV induces high levels of virus neutralizing antibodies and mediates protection in rodents. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.10.23.351775>  
<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.10.23.351775v1.full.pdf>
- 30 - Summerton J. Morpholino antisense oligomers: the case for an RNase H-independent structural type. *Biochim Biophys Acta*. 1999 Dec 10;1489(1):141-58. doi: 10.1016/s0167-4781(99)00150-5. PMID: 10807004. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10807004/>
- 31 - Dolei A. The aliens inside us: HERV-W endogenous retroviruses and multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2018 Jan;24(1):42-47. doi: 10.1177/1352458517737370. PMID: 29307292.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29307292/>
- 32 - Antony JM, Deslauriers AM, Bhat RK, Ellestad KK, Power C. Human endogenous retroviruses and multiple sclerosis: innocent bystanders or disease determinants? *Biochim Biophys Acta*. 2011 Feb;1812(2):162-76. doi: 10.1016/j.bbadis.2010.07.016. Epub 2010 Aug 6. PMID: 20696240; PMCID: PMC7172332. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7172332/pdf/main.pdf>
- 33 - Arru G, Mameli G, Deiana GA, Rassu AL, Piredda R, Sechi E, Caggiu E, Bo M, Nako E, Urso D, Mariotto S, Ferrari S, Zanusso G, Monaco S, Sechi G, Sechi LA. Humoral immunity response to human endogenous retroviruses K/W differentiates between amyotrophic lateral sclerosis and other neurological diseases. *Eur J Neurol*. 2018 Aug; 25(8):1076-e84. doi: 10.1111/ene.13648. Epub 2018 May 14. PMID: 29603839.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29603839/>
- 34 - Alfahad T, Nath A. Retroviruses and amyotrophic lateral sclerosis. *Antiviral Res*. 2013 Aug;99(2):180-7. doi: 10.1016/j.antiviral.2013.05.006. Epub 2013 May 23. PMID: 23707220; PMCID: PMC3723705.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23707220/>
- 35 - Küry P, Nath A, Créange A, Dolei A, Marche P, Gold J, Giovannoni G, Hartung HP, Perron H. Human Endogenous Retroviruses in Neurological Diseases. *Trends Mol Med*. 2018 Apr;24(4):379-394. doi: 10.1016/j.molmed.2018.02.007. Epub 2018 Mar 15. PMID: 29551251; PMCID: PMC7185488.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7185488/pdf/main.pdf>
- 36 - Levet S, Charvet B, Bertin A, Deschaumes A, Perron H, Hober D. Human Endogenous Retroviruses and Type 1 Diabetes. *Curr Diab Rep*. 2019 Nov 21;19(12):141. doi: 10.1007/s11892-019-1256-9. PMID: 31754894; PMCID: PMC6872510. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31754894/>

## ALLEGATO 2: LA PROGENIE DEI VACCINATI DELL'ANNO 2021 POSSIEDE L'INFORMAZIONE EPIGENETICA PER ESPRIMERE IN MODO STABILE, CASUALE, TESSUTO-SPECIFICA, LA PROTEINA SPIKE VACCINALE?

### RNA ESOGENO E PATOLOGIA UMANA

La scoperta dell'RNA extracellulare (exRNA) ha cambiato la nostra comprensione del ruolo dell'RNA in funzioni cellulari complesse come la comunicazione cellula-cellula, come biomarcatore correlato alla patologia ("Danger-associated Molecular Pattern"-DAMP) del sistema immunitario.

La presenza di exRNA circolante nel sangue umano fu scoperta per la prima volta nel 1944 (Mandel, 1948). Questi exRNA comprendono una varietà di specie di RNA che si trovano al di fuori delle cellule in cui sono stati trascritti, comprendono piccoli trascritti (microRNA), lunghe sequenze non codificanti e RNA ribosomiali (rRNA).

Queste specie sono secrete da varie cellule tramite diversi meccanismi non ancora completamente compresi. Negli organismi multicellulari, gli exRNA sono presenti in quasi tutti i fluidi biologici (urina, latte, saliva ...), il più studiato dei quali è sicuramente il sangue. **Ma come possono essere stabili in un ambiente extracellulare così sfavorevole e ricco di ribonucleasi (RNasi)?**

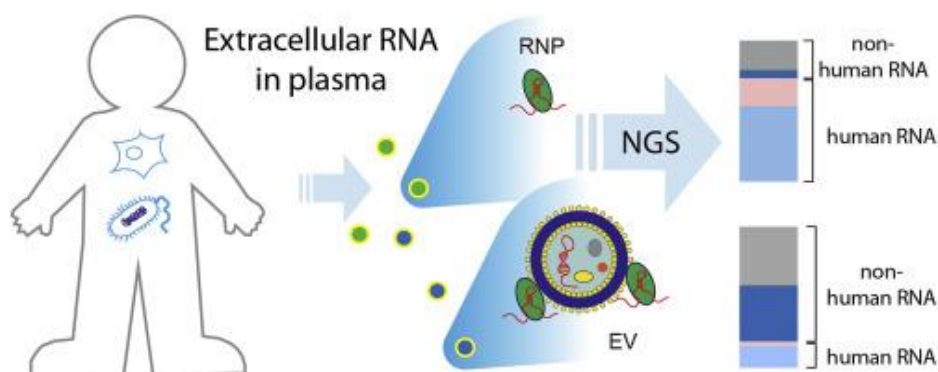
Gli RNA circolanti richiedono protezione dalla degradazione nucleolitica. Questa protezione può essere garantita in due modi diversi.

Da un lato, alcuni RNA, in particolare i miRNA, sono in uno "stato solubile" e sono inclusi in complessi ribonucleoproteici (RNP) contenenti sia acidi ribonucleici che proteine associate. Più raramente essi esistono come parte di particelle, simili alle lipoproteine a bassa e alta densità (LDL e HDL), gli esomeri.

Tra tutte le sottopopolazioni di exRNA presenti nel plasma, la frazione esosomiale è la più studiata perché queste vescicole hanno una biogenesi specifica, svolgono funzioni biologiche note e hanno dimostrato di essere coinvolte in diverse malattie (Tielking et, 2019).

I primi studi sulla composizione dell'exRNA contenuto in vescicole extracellulari hanno mostrato la presenza di miRNA e più di mille diversi mRNA. Questi mRNA sembrano essere funzionanti dal punto di vista traduzionale perché dopo il trasferimento di RNA extravesicolari di topo in mastociti umani, è stato scoperto che nuove proteine di topo vengono prodotte nelle cellule riceventi, indicando che gli mRNA esosomiali trasferiti possono essere tradotti dopo essere entrati in un'altra cellula.

Questi campioni hanno composizioni di RNA piuttosto distinte rispetto alle preparazioni farmacologiche di EV (enveloped vesicles) precipitate con PEG e contengono una proporzione sostanziale di exRNA di origine anche non umana, derivante dalla cute umana e dal microbiota intestinale, compreso il microbiota virale. Questi exRNA esogeni rappresentano fino al 75-80% delle molecole totali di RNA in vescicole extracellulari altamente purificate.



**Fig. 1:** composizione dell'exRNA contenuto in vescicole extracellulari

Dati recenti suggeriscono che diversi tipi di exRNA possono svolgere un ruolo chiave nella fisiopatologia di varie malattie come l'infarto miocardico, malattie polmonari e malattie autoimmuni

Le cellule tumorali, le cellule apoptotiche e i monociti / macrofagi possono rilasciare RNA nello spazio extracellulare in seguito a stimolazione infiammatoria. Una volta secreti o liberati, gli exRNA possono agire come allarmine proinfiammatorie o protrombotiche, aumentando così la permeabilità vascolare o agendo come cofattori protrombotici, mentre vari miRNA possono essere assorbiti in forma vescicolare dalle cellule bersaglio e alterare il loro programma genetico.

L'RNA ribosomiale fornisce la maggior parte degli exRNA e i miRNA sono prevalentemente associati a esosomi "enveloped". Diversi studi hanno dimostrato che l'exRNA ribosomiale (rexRNA) costituisce un'allarmina proinfiammatoria e protrombotica.

In assenza di infiammazione o processi maligni, la quantità di exRNA nel plasma sanguigno umano e nei supernatanti di colture cellulari rimane bassa (<100 ng/ml) e aumenta in modo significativo in conseguenza di processi patologici come ischemia, infezione, apoptosi o necrosi

Le analisi degli exRNA associati alle vescicole liposomiche endogene hanno dimostrato che i miRNA insieme ai ribosomal exRNA formano la maggior parte della frazione di exRNA associata alle vescicole nel plasma umano.

L'interazione di exRNA con specifici recettori cellulari proteici (*toll like receptors* - TLR) si traduce in un'attivazione sinergica della segnalazione NF- $\kappa$ B, promuovendo così l'infiammazione. La via NF- $\kappa$ B è indotta per esempio dal legame dell'exRNA al recettore della membrana cellulare RAGE con internalizzazione consecutiva dell'acido nucleico.

Il recettore TLR13 che si trova sulle membrane endosomiali può anche attivare la segnalazione NF- $\kappa$ B attraverso l'interazione con l'exRNA. TLR3 e TLR7 costituiscono altri due recettori bersaglio endosomiali dell'exRNA, che a loro volta attivano rispettivamente la segnalazione TRIF e IFN- $\alpha$ . Inoltre, l'exRNA porta a livelli più elevati di IL-6 e TNF- $\alpha$  dopo il legame con TLR8.

L'exRNA esercita la sua funzione procoagulativa convertendo i fattori della coagulazione VII, X e XII nelle loro forme attive. Una maggiore permeabilità vascolare si verifica come conseguenza del legame dei complessi exRNA-VEGF al VEGF-R2 endoteliale che successivamente si traduce nella disintegrazione delle tight junction cellulari con secondario aumento della permeabilità delle barriere epiteliali e deteriorano il microbioma intestinale

Vari exRNA sono associati a patologie del sistema nervoso centrale, come mostrato in tabella.

	Tumor			Vascular pathologies			Demyelinating disease
	Glioblastoma (GBM)	Low-grade Glioma	Metastases	Ischemic stroke	Hemorrhagic stroke	Sinus venous and arterial thrombosis	Multiple sclerosis (MS)
exRNA species	miRNA, mRNA, Y RNA fragments in MVs and exosomes total exRNA	miRNA and mRNA in MVs and exosomes	miR-181c in EVs	miRNAs, piRNAs, and snoRNAs total exRNA	miRNA and mRNAs in MVs and exosomes	total exRNA	miRNAs exosomal miRNAs
Origin of exRNA	human CSF, human glioma stem-like cultures, human GBM line	human CSF, human serum	human brain metastasis breast cancer cell line	human plasma	human CSF	Mouse and rat model	human serum and plasma
Findings	increased levels of miRNA and mRNA in CSF main exRNA source: fragmented rRNA exRNA enriched in distinct snRNAs: mRNA in MVs, miRNA in EVs, tRNA and Y RNA fragments in EVs and exRNPs miR-451* and miR-21 in GBM EVs released and transferred to microglia → proliferation and immunosuppressive phenotype exRNA released by tumor cells, promoting cell invasion and tumor progression	increased levels of miRNA and mRNA in CSF hsa-miR-549a and hsa-miR-502-5p in serum correlate with survival in oligodendroglioma and astrocytoma	Cancer-derived miR-181 in MVs promote breakdown of BBB by downregulation of PDPK1 Cell-derived MVs promote brain metastasis	miR-877-5p, miR-124-3p, miR-320d, and sno1403 associated with prevalent stroke miR-656-3p, miR-3615, and miR-941 associated with incident stroke Inhibition of exRNA via RNase treatment in stroke model reduces vasogenic edema and stroke volume	increased levels of miRNA and mRNA in CSF	exRNA accumulation within occluding thrombus in mouse model of arterial thrombosis; inhibition of exRNA via RNase treatment delays thrombus formation inhibition of exRNA via RNase in rat model of superior sagittal sinus thrombosis reduces occlusion rate and edema formation	miR-15b-5p, miR-23a-3p, miR-223-3p, miR-374a-5p, miR-30b-5p, miR-433-3p, miR-485-3p, miR-342-3p, miR-432-5p distinguishing relapsing-remitting from progressive MS miR-let-7a and miR-648a decreased in MS remission
Source	Fischer et al., 2013; Li et al., 2013; van der Vos et al., 2016; Saugstad et al., 2017; Wei et al., 2017	Saugstad et al., 2017; Drusco et al., 2018	Tominaga et al., 2015	Fischer et al., 2007; Mick et al., 2017	Saugstad et al., 2017	Fischer et al., 2007; Kannemeier et al., 2007	Kacperska et al., 2015; Ebrahimkhani et al., 2017

**Fig. 2:** ruolo di exRNA in patologie del sistema nervoso centrale

Il SarsCov2 in quanto virus a RNA a singolo filamento e gli altri betacoronavirus come SARS-CoV-1 e MERS possiede attività retrotrascrittiva, replica il proprio genoma e trascrive il proprio RNA subgenomico.

Una possibilità studiata è che l'RNA di SARS-CoV-2 possa essere retrotrascritto in cDNA e integrato nel genoma umano, trascritto in RNA+ a singolo filamento e dare test molecolare positivo. Sono stati pubblicati studi controversi e contrastanti, alcuni in formato pre-print pertanto non catalogabili, al momento, come fonti certe e inequivocabili. Al di là della non univoca proprietà di integrazione di SarsCov2 nel genoma umano, possiamo mutuare questi studi sull'interazione del SarsCov2 con l'ospite come modelli per comprendere alcuni meccanismi molecolari di possibile danno delle molecole di DNA ed RNA esogeni ai tessuti umani.

Le cellule umane ad elevato indice mitotico (cellule fetali, gameti, cellule placentari, cellule presentanti l'antigene, cellule della cute e del sistema reticolo-endoteliale) posseggono attività di trascrittasi inversa endogena tale da produrre DNA retrotrascritti che possono essere introdotti nel genoma cellulare.



## BIOLOGIA DEGLI ACIDI NUCLEICI EXTRACROMOSOMICI

Il DNA umano possiede molte sequenze che non specificano per geni ma hanno comunque funzione fondamentale e solo recentemente conosciuti.

Le sequenze TE (*transposable elements*) sono elementi mobili del DNA presenti in quasi tutti gli eucarioti e comprendono oltre il 40% del genoma umano (Dewannieux et al., 2003). Hanno capacità di auto-replicarsi e inserirsi in varie posizioni all'interno del genoma. L'alterata regolazione dei TE può portare a varie malattie come le malattie infiammatorie (Saleh et al., 2019). Tra i TE il retrotrasposone è l'unico capace di "copiare e incollare" sé stesso attraverso un RNA intermedio.

In pratica i retrotrasposoni traspongono copiandosi prima in un intermedio a RNA e, successivamente, revertendo in DNA (attraverso la trascrittasi inversa) integrandosi in una nuova posizione all'interno del genoma. Ogni volta che un trasposone si sposta una copia di sé stesso rimane sempre nella sede originaria. Questo meccanismo permette ai trasposoni di incrementare notevolmente e rapidamente la presenza delle loro copie all'interno del genoma, aumentando conseguentemente anche la grandezza del genoma stesso.

Si distinguono due sottoclassi di retrotrasposoni: i retrotrasposoni che presentano alle estremità delle lunghe sequenze ripetute terminali (LTR) e i retrotrasposoni che non le presentano (*retrotrasposoni non-LTR*).

**L'espressione del retrotrasposone è soppressa nelle cellule somatiche ma rimane attiva solo nel cervello, nelle cellule germinali, negli embrioni precoci e in condizioni patologiche** (Munoz-Lopez et al., 2016). Circa il 5% dei neonati mostra un nuovo evento di integrazione del retrotrasposone (Cordaux et al., 2006). Studi hanno mostrato che attualmente l'entità di attività retrosposonica nel genere umano sia sorprendentemente aumentata da un evento ogni 150 nascite a un evento ogni 20 nascite (Shamanna et al, 2009).

I retrotrasposoni LTR possiedono alle estremità sequenze ripetute, lunghe dalle 100 alle 5000 coppie di basi e costituiscono l'8% del genoma umano.

I retrotrasposoni non-LTR vengono suddivisi in due sottotipi, le brevi sequenze intersperse (SINE), e le lunghe sequenze intersperse (LINE).

- Le **LINE** sono lunghe sequenze di DNA (di più di 5000 coppie di basi). Codificano per 2 geni, uno dei quali presenta attività di trascrittasi inversa e di integrasi permettendo la copia e la trasposizione sia di loro stessi, sia di altre sequenze non codificanti (come le SINE). Poiché traspongono replicandosi, le LINE sono in grado di accrescere la grandezza di un genoma. Il genoma umano per esempio, contiene oltre 900'000 LINE, che costituiscono all'incirca il 21% dell'intero genoma. Ad ogni modo sono sequenze anticamente virali che hanno perso i geni strutturali ma che conservano la loro attività trasposonica.
- Le **SINE** sono brevi sequenze di DNA (di meno di 500 coppie di basi). Le SINE raramente sono trascritte, e non codificano per la trascrittasi inversa; hanno perciò bisogno delle proteine codificate da altre sequenze (come le LINE) per trasporre. Le SINE più comuni nei primati (e dunque anche nell'uomo) appartengono alla famiglia delle *sequenze Alu*. Gli elementi di questa famiglia genica sono lunghi circa 300 coppie di basi, e possono essere individuate dal fatto che sono capaci di legare l'enzima *Alu I* (da cui il nome). Presenti nel genoma umano in oltre 1 milione di copie, le SINE costituiscono all'incirca l'11% del patrimonio genetico totale. Sebbene solitamente classificate come DNA spazzatura ricerche recenti hanno suggerito che le LINE e le SINE possano aver avuto sia un ruolo importante nell'evoluzione dei genomi, sia significativi effetti a livello strutturale e trascrizionale.

La maggior parte dei ripetuti interspersi LINE e SINE nel genoma è anteriore alla radiazione degli euteri ed in particolare, gli elementi LINE e SINE hanno vita lunga: la linea monofiletica di LINE1 infatti ha almeno 150 milioni di anni mentre quella di Alu 80 milioni.

Attualmente si rileva un'assenza di attività dei trasposoni a DNA nel genoma umano dagli ultimi 50 milioni di anni ed anche i retroposoni LTR sembrano essere sull'orlo dell'estinzione, se non sono già estinti.

In generale, l'attività di tutti i trasposoni si è ridotta marcatamente negli ultimi 35±50 milioni di anni con l'eccezione di **LINE1**. Quindi, a parte un'eccezionale attività delle Alu intorno a 40 milioni di anni fa, nella linea umana c'è stato un graduale declino della attività dei trasposoni a partire dalla radiazione dei mammiferi, che non si osserva ad esempio nel genoma del topo.

Inoltre, mentre la sovraespressione della trascrittasi inversa LINE-1 o HIV-1 nelle linee cellulari HEK in vitro può produrre DNA cellulare corrispondente alle sequenze del virus COVID-19.

Ad oggi non ci sono prove che questa scoperta abbia rilevanza per la medicina clinica umana ... **O forse no ... facciamo chiarezza**

### **FARMACI A BASE DI RNAm: UNA IPOTECA PER LE GENERAZIONI FUTURE**

Gli spermatozoi di quasi tutte le specie possono captare spontaneamente molecole di DNA o RNA esogene e interiorizzarle nei nuclei. L'attività della trascrittasi inversa (RT), codificata dai retrotrasposoni LINE-1, determina il destino delle molecole di acido nucleico interiorizzate e ha implicazioni dirette nell'eredità transgenerazionale.

La RT derivata da LINE-1, presente nelle teste degli spermatozoi, può retrotrascrivere le molecole interiorizzate in copie di DNA (cDNA): l'RNA esogeno viene trascritto in senso inverso in un solo passaggio mentre il DNA viene prima trascritto in RNA e successivamente trascritto in DNA. Entrambe le molecole di RNA e cDNA possono essere trasportate dagli spermatozoi agli ovociti durante la fecondazione, ulteriormente propagate durante l'embriogenesi ed ereditate in modo non mendeliano nei tessuti di animali adulti (mosaicismo).

Le sequenze retrotrascritte restano extracromosomiche, non si integrano nel genoma cromosomico sono presenti in bassa quantità, e distribuite a mosaico nei tessuti di individui adulti, dove sono espresse in modo variabile, cioè risultano trascrizionalmente competenti.

Questi "retrogeni" sono trascrizionalmente competenti e **inducono nuovi tratti fenotipici** negli animali. Prove crescenti indicano che i tessuti neoplastici producono esosomi contenenti DNA e RNA. E' stato recentemente scoperto che questi esosomi vengono rilasciati nel flusso sanguigno e alla fine assorbiti negli spermatozoi dell'epididimo, in linea con la visione emergente che un flusso transgenerazionale di RNA extracromosomico colleghi le cellule somatiche alla linea germinale e, inoltre, agli embrioni di prossima generazione. Gli spermatozoi svolgono un ruolo di collegamento cruciale in questo processo: **agiscono come raccoglitori di informazioni somatiche e come vettori di trasmissione alla generazione successiva**. Nel complesso, questo fenomeno è compatibile con una visione di tipo lamarckiano e ricorda da vicino la pangenesi darwiniana.

### **COSA CI HA INSEGNATO LA RICERCA RECENTE**

È nozione consolidata che gli spermatozoi maturi abbiano la capacità spontanea di assorbire molecole di DNA esogene e di interiorizzarle nei loro nuclei (rivisto da Spadafora, 1998). Questa permeabilità è una caratteristica distintiva degli spermatozoi, sia epididimali che eiaculati (cioè dopo il lavaggio del liquido seminale), praticamente in tutte le specie animali, compreso l'uomo (Smith e Spadafora, 2005). Pertanto, nonostante la struttura altamente compatta e impenetrabile dei loro nuclei, gli spermatozoi sono in realtà altamente permeabili all'intrusione di molecole estranee. Indagini approfondite su questo fenomeno hanno rivelato che l'interazione di molecole di DNA esogene con gli spermatozoi, così come la loro successiva internalizzazione nucleare, sono processi ben regolati e mediati da una rete di fattori specifici (Spadafora, 1998). Studi paralleli hanno rivelato che gli **spermatozoi possono anche assorbire molecole di RNA e interiorizzarle nei loro nuclei**. In modo del tutto inaspettato per gli scienziati questi RNA vengono retrotrascritti in copie di cDNA dall'azione biologicamente attiva della trascrittasi inversa (RT) codificata dai retrotrasposoni LINE-1 e presente nei nuclei degli spermatozoi (Giordano et al., 2000; Spadafora, 2008).



La RT derivata da LINE-1 interagisce con una RNA polimerasi DNA-dipendente, presente anche negli spermatozoi (Fuster et al., 1977), e insieme amplificano il numero di copie dei cDNA, mimando il processo diagnostico della PCR / RT-PCR ma "naturale". La maggior parte delle copie di cDNA appena generate vengono rilasciate dagli spermatozoi nel terreno e possono essere riprese da ulteriori spermatozoi dello stesso individuo e interiorizzate nei loro nuclei. Attraverso questo processo a ciclo continuo, le copie di cDNA vengono distribuite uniformemente nella stragrande maggioranza delle sospensioni di spermatozoi. Il lavoro con modelli murini ha mostrato che i cDNA generati da RT sono ceduti agli ovociti al momento della fecondazione (Giordano et al., 2000; Pittoggi et al., 2006), mantenuti in basso numero di copie (inferiore a una copia / genoma) non integrati nel DNA cromosomico e quindi mantenuti come sequenze extracromosomiche durante lo sviluppo, in mosaico e propagati nei tessuti degli individui progenitori e, infine trasmessi nuovamente in modo non mendeliano alla generazione successiva. I cDNA sono trascrizionalmente competenti e in grado di generare variazioni fenotipiche negli animali di entrambe le generazioni: progenitrice e derivata (prole) (Sciamanna et al., 2003; Pittoggi et al. al., 2006). **Questi risultati suggeriscono che gli spermatozoi sono una fonte precedentemente non riconosciuta di informazioni genetiche mediate da RT, non collegate ai geni cromosomici e, allo stesso tempo, agiscono come vettori di propagazione per generazioni.**

Questi risultati sollevano domande sconcertanti.

In primo luogo, la capacità degli spermatozoi di assorbire molecole di acido nucleico estraneo riflette un comportamento forzato, quando vengono a contatto con l'RNA in vitro, oppure gli spermatozoi raccolgono e trasportano naturalmente molecole estranee in condizioni fisiologiche anche in vivo?

In secondo luogo, l'attività RT immagazzinata negli spermatozoi rappresenta un residuo privo di funzione dell'attività di retrotrasposone ancestrale, portato a nuova vita in risposta a intrusioni occasionali di molecole estranee, o esercita un ruolo fisiologico esistente nello sviluppo? Questi due problemi, ovvero la permeabilità degli spermatozoi all'RNA esogeno e la RT spermatica che utilizza quest'ultimo come substrato per la retrotrascrizione, sollevano la terza questione chiave: se questi fenomeni siano fisiologicamente rilevanti se, in altre parole, costituiscono fonte di nuove informazioni in natura.

Per iniziare ad affrontare questi problemi, era imperativo caratterizzare la popolazione di RNA immagazzinata negli spermatozoi e possibilmente identificarne l'origine. Negli ultimi anni, le nuove tecnologie e i metodi di sequenziamento di nuova generazione hanno rivelato una composizione altamente complessa dell'RNA spermatozoico, i cui componenti stanno emergendo sempre più come attori chiave nei processi di ereditarietà epigenetica.

## **IL COMPLESSO PANORAMA TRASCRIZIONALE DEGLI SPERMATOZOI**

Le opinioni tradizionali consideravano gli spermatozoi cellule trascrizionalmente silenti (Grunewald et al., 2005) e l'RNA degli spermatozoi come trascurabili prodotti residui della spermatogenesi. Dati più recenti tuttavia contrastano con queste opinioni, dimostrando che gli spermatozoi maturi contengono una popolazione complessa di RNA codificanti, piccole classi di RNA non codificanti e, infine, trascritti associati alle sequenze LINE-1, SINE/Alu e LTR (Jodar et al., 2013; Sandler et al., 2013; Miller, 2014). I piccoli RNA non codificanti rappresentano quantitativamente la percentuale più importante di RNA spermatozoico (Krawetz et al., 2011; Kawano et al., 2012), rappresentato principalmente da piRNA prodotti durante la spermatogenesi, tsRNA (derivato da tRNA) e, in misura minore, i microRNA (miRNA) che sono predominanti negli spermatozoi dell'epididimo (Chen et al., 2016b). **È importante sottolineare che la composizione della popolazione di RNA spermatozoico varia in risposta all'esposizione paterna a una varietà di condizioni di stress** (Rodgers et al., 2013; Brieno-Enriquez et al., 2015), una circostanza che può avere conseguenze cruciali per il destino e salute della prole.

Ancora più importante, dati crescenti rivelano che gli RNA di origine somatica contribuiscono anche alla composizione del carico di RNA spermatico sotto forma di RNA selettivamente trattenuto derivato dalla comunicazione intercellulare soma-spermatozoi. Questo flusso è mediato da una classe speciale di nanovesicole derivate dall'epididimo, chiamate epididimosomi, che trasportano miRNA e frammenti di

tRNA dal tessuto epididimale agli spermatozoi maturi (Belleannée et al., 2013; Vojtech et al., 2014; Sharma et al., 2016).

Le molecole di RNA presenti nel liquido seminale consistono di diverse centinaia di piccoli RNA rilevanti per lo sviluppo, sono il prodotto di un processo di "setacciatura", cioè sono "misteriosamente selezionati" poiché i loro profili sono distinti da quelli del soma circostante (Reilly et al., 2016). La modulazione del contenuto di RNA spermatico si verifica durante la maturazione degli spermatozoi tra i segmenti dell'epididimo prossimale e distale e identifica l'epididimo come un sito chiave per l'istituzione dell'**epigenoma spermatico** (Nixon et al., 2015).

E' stato recentemente pubblicato che gli spermatozoi dell'epididimo possono incorporare RNA da esosomi rilasciati da cellule somatiche. Studiosi hanno scoperto che le cellule di melanoma umano, ingegnerizzate per esprimere EGFP e inoculate in topi nudi, rilasciano nanovesicole contenenti EGFP-RNA nel flusso sanguigno degli animali, **cioè RNA prodotto in un sito lontano può essere immesso nel torrente circolatorio e una parte di tale RNA infatti si può rilevare nella testa degli spermatozoi in questi modelli animali, raggiunge l'epididimo e viene interiorizzata dagli spermatozoi** (Cossetti et al., 2014). Questa scoperta mostra che il flusso di RNA consegnato agli spermatozoi proviene non solo dal soma epididimo circostante, ma anche da distretti del corpo distanti e non correlati. Le nanovesicole fungono da vettori ideali di tale rilascio. Le teste degli spermatozoi sono i destinatari finali di queste informazioni extracromosomiche grazie alla loro capacità di assorbire spontaneamente molecole di acido nucleico (RNA e DNA) esogeno. Nel complesso, questi dati indicano che l'impenetrabile barriera di Weismann, considerata per lungo tempo una pietra angolare della genetica moderna, può infatti essere violata da flussi di RNA extracromosomiale mediati da nanovesicole (Eaton et al., 2015).

#### **ROMPERE LA BARRIERA DI WEISMANN: UN FLUSSO BASATO SULL'RNA MEDIATO DALLO SPERMA COLLEGA IL SOMA AGLI EMBRIONI DI NUOVA GENERAZIONE**

Il carico di RNA spermatozoico non è un fattore limitante lo sviluppo dello zigote; infatti per lo sviluppo degli embrioni è fondamentale l'informazione genetica cromosomica contenuta nei cromosomi parentali. Ma allora qual'è la portata delle informazioni contenute nel carico dell'RNA degli spermatozoi?

**Una nuova svolta nel campo viene fornita da dati recenti che indicano che la composizione dell'RNA dello sperma riflette le abitudini di vita e porta la "memoria" delle esperienze paterne.** La memoria basata sull'RNA è trasmissibile alla prole, gli conferisce caratteristiche acquisite da parte del padre, con il potenziale di influenzare la salute e il destino biologico generale della progenie che vivrà esattamente nell'ambiente in cui le informazioni paterne si sono accumulate. E' un meccanismo che la natura ha selezionato per conferire alla prole resistenza all'ambiente in cui i genitori vivono in senso evolutivo (rivisto da Liebers et al., 2014; Klosin e Lehner, 2016).

Di notevole interesse sono i recenti esperimenti che hanno valutato il potenziale degli RNA spermatici come modificatori transgenerazionali in risposta alle condizioni ambientali o di stress dei genitori (Carone et al., 2010; Rodgers et al., 2013, 2015), compresa la dieta (Fullston et al., 2013; Chen et al., 2016a; Huypens et al., 2016), fumo di sigaretta (Marczylo et al., 2012), sensibilità agli odori (Dias e Ressler, 2014) e condizionamento cognitivo e comportamentale (Rodgers et al., 2013; Gapp et al., 2014). Modelli animali infatti hanno dimostrato inequivocabilmente che l'RNA degli spermatozoi internalizzato dall'ambiente esterno è un modificatore transgenerazionale (Rassoulzadegan et al., 2006; Gapp et al., 2014; Grandjean et al., 2015; Chen et al., 2016a).

Questi dati mostrano che l'ereditarietà non è esclusivamente legata ai geni cromosomici. In effetti, viene stabilito un flusso sottile ma efficace di RNA tra i tessuti somatici e gli embrioni di nuova generazione. Gli spermatozoi sono i perni, che svolgono un duplice ruolo sia come raccoglitori di RNA extracromosomico paterno che come loro vettori per la prole. Le prove emergenti che le informazioni basate sull'RNA possono viaggiare dal soma alla linea germinale sovvertono la teoria di Weismann e forniscono una base per l'eredità dei tratti acquisiti con implicazioni di vasta portata per i processi evolutivi.

Oltre ad essere immagazzinato negli spermatozoi maturi, la RT codificata da LINE-1 è anche abbondantemente espressa negli embrioni in fase precoce di sviluppo ed è implicata nella genesi e propagazione delle informazioni extracromosomiche. È stato riportato che la RT codificata dal retrotrasposone LINE-1 viene attivata subito dopo la fecondazione in entrambi i pronuclei zigotici, prevalentemente nel pronucleo paterno (Vitullo et al., 2012), e rimane attiva negli embrioni già in fase di preimpianto (Pittoggi et al., 2003). La RT gioca un ruolo cruciale nello sviluppo precoce: infatti, l'inibizione della RT, indotta da inibitori farmacologici della RT (Pittoggi et al., 2003), o sottoregolando l'espressione della LINE-1 mediante microiniezione di oligonucleotidi antisense nei pronuclei zigotici (Beraldi et al., 2006), provoca un arresto drastico dello sviluppo dell'embrione negli stadi a 2 o 4 cellule. Questi risultati suggeriscono che la RT è strettamente necessaria per il dispiegamento del programma di sviluppo dalla seconda divisione cellulare, poiché la prima scissione sfrutta l'RNA materno immagazzinato negli ovociti (Tang et al., 2007).

Il quadro che emerge è il seguente

1. le nanovesicole contenenti RNA vengono rilasciate dai tessuti somatici nel flusso sanguigno;
2. Gli spermatozoi epididimali assorbono le nanovesicole e le interiorizzano nei loro nuclei;
3. Le molecole di RNA interiorizzate vengono elaborate e il loro numero di copie viene amplificato, tramite l'interazione RT / RNA polimerasi dipendente dal DNA;
4. Gli RNA somatici, o le loro copie di cDNA, vengono trasmessi dallo sperma agli embrioni al momento della fecondazione.

I primi tre passaggi rinnovano continuamente l'accumulo di RNA nelle teste di sperma. L'ultimo, cioè la consegna dell'RNA somatico trattato agli ovociti, può ripresentarsi ad ogni ciclo di fecondazione. Attraverso questo processo, l'RNA dello sperma viene trasmesso da una generazione all'altra, il che può contribuire all'idoneità dell'embrione e in linea di principio espandere l'adattamento del neonato alle diverse condizioni ambientali. **È ragionevole presumere che un'ampia percentuale di maschi che vivono in una stessa nicchia ecologica ed esposti agli stessi stimoli, producano carichi di RNA spermatico di composizione simile;** in condizioni ambientali costanti, questi carichi di RNA sarebbero continuamente consegnati alla progenie attraverso la fecondazione per generazioni. Non è irragionevole ipotizzare che, nel lungo periodo (cioè dopo un numero "sufficiente" di generazioni), gli RNA spermatici promuovano l'"assimilazione" di nuovi tratti, per usare il concetto di Waddington (Waddington, 1959). In altre parole, gli effetti cumulativi del rilascio dell'RNA attraverso le generazioni possono promuovere l'emergere di nuove vie funzionali "canalizzate" (Waddington, 1959), attraverso il rimodellamento dell'architettura embrionale della cromatina; di conseguenza, potrebbero essere attivati nuovi circuiti genetici e / o potrebbero essere "ricablati" quelli preesistenti. Meccanicamente, gli RNA forniti dallo sperma durante la fecondazione guiderebbero l'emergere di nuove vie canalizzate attraverso due fasi sequenziali:

- (i) in primo luogo, "ricablando" il profilo di espressione dei geni che costituiscono circuiti genetici canalizzati, e,
- (ii) (ii) secondo, tramite eventi di retrotrasposizione mirati che forniscono nuove sequenze regolatorie, che portano a completamento i circuiti di nuova canalizzazione.

Quando gli effetti cumulativi dell'RNA erogato dallo sperma superano la capacità tampone degli embrioni, il nuovo circuito genomico canalizzato ha il potenziale per reindirizzare l'ontogenesi embrionale e generare novità fenotipiche.

Tre considerazioni suggeriscono che questi cambiamenti potrebbero essere **assimilati in modo permanente**. In primo luogo, si ritiene che gli zigoti e gli embrioni in fase iniziale di sviluppo forniscano ambienti permissivi e inclini al cambiamento, coerentemente con la scoperta che il genoma embrionale in fase precoce è in gran parte non strutturato prima dell'attivazione del genoma zigotico, mostrando un basso livello di organizzazione della cromatina su lunghe distanze genomiche (Hug et al. 2017). In secondo luogo, l'attività RT codificata in LINE-1 è elevata negli embrioni preimpianto (Vitullo et al., 2012). Il periodo

periconcezionale e concezionale precoce è molto delicato in questo senso. Inoltre, le famiglie di retrotrasposoni (cioè, LINE-1, Alus, LTR) sono de-represse negli embrioni in concomitanza con l'ipometilazione genomica globale (Lee et al., 2014; Smith et al., 2014) e costituiscono una potenziale fonte di variazioni genetiche ed epigenetiche (Macia et al., 2011; Vitullo et al., 2012; Fadloun et al., 2013).

L'attuale modello di eredità transgenerazionale tenta di integrare i dati provenienti da diverse fonti in un quadro biologicamente coerente. La maggior parte degli aspetti implicati nel processo sono testati sperimentalmente e sono potenzialmente in grado di generare novità rilevanti a livello transgenerazionale. Il meccanismo è prevalentemente epigenetico e indipendente dalle mutazioni genomiche. È importante sottolineare che la "forza di setacciamento" della selezione naturale non è necessaria in termini convenzionali, perché **il processo di canalizzazione guidato dall'RNA spermatico genererebbe percorsi specifici, lasciando poco spazio per variazioni casuali e favorendo l'emergere finale di uno o pochi nuovi fenotipi**. In analogia con il lamarckismo, questa ipotesi si basa sul presupposto che l'eredità transgenerazionale extracromosomica possa influenzare l'ontogenesi e generare variazioni evolutivamente significative, acquisite stabilmente. La pangenesi darwiniana (Holterhoff, 2014) è l'altra teoria con cui il modello ha una significativa sovrapposizione. L'ipotesi che le "gemme" contenenti caratteri parentali vengano rilasciate dai tessuti e trasferite alla generazione successiva tramite la linea germinale può ora essere reinterpretata alla luce delle nostre attuali conoscenze di nanovesicole ed esosomi circolanti, che trasportano acidi nucleici e rilasciati dai tessuti somatici, che possono essere assorbito dagli spermatozoi, fornendo così una base per l'eredità transgenerazionale mediata dagli spermatozoi. È sorprendente che i cosiddetti concetti obsoleti, sviluppati nel contesto di due teorie storicamente rifiutate, stiano riemergendo da dati sperimentali moderni basati su metodologie genomiche di prossima generazione, confermando così che la storia a volte si ripete.

#### **POSSIBILE DANNO ALLA FERTILITA' MASCHILE**

Un recente rapporto pubblicato su JAMA Network Open ha rivelato che in un'analisi di 38 campioni di liquido seminale di pazienti COVID-19, 6 (4 nella fase acuta dell'infezione e, allarmante, 2 in fase di convalescenza e quindi con tampone faringeo negativo) sono risultati positivi al virus identificato mediante RT-PCR.<sup>1</sup>

La possibilità che il Sars-Cov-2 potrebbe avere un impatto sulla biologia dei testicoli è stata suggerita da ulteriori dati che indicano che l'infezione attiva da COVID-19 ha ridotto drasticamente il rapporto testosterone/LH suggerendo un impatto significativo sulla reattività delle cellule di Leydig alla stimolazione di LH. Molti virus superano la barriera ematotesticolare (via ematogena). Ma è possibile che il SarsCov2 possa raggiungere le cellule germinali attraverso il liquido seminale e infettare gli spermatozoi (via post-testicolare).

La **proteina spike virale** riconosce il proprio recettore nell'ACE2 (enzima di conversione dell'angiotensina 2), che è altamente espresso dalle cellule di Leydig, le cellule di Sertoli e la linea germinale. Esistono dati che rivelano che l'infezione da Sars-Cov-2 possa danneggiare le cellule germinali inficiando la fertilità maschile.

Studi di genomica e indagini con Ab monoclonali mostrano che la superficie degli spermatozoi esprime l'ACE. Gli spermatozoi esprimono una variante testicolare di ACE1 che converte l'angiotensina I in angiotensina II. L'ACE testicolare corrisponde alla forma ancestrale non duplicata del gene ACE; ma biochimicamente esegue esattamente la stessa funzione dell'ACE1 somatico. Gli spermatozoi esprimono anche l'ACE2, che converte l'angiotensina II in angiotensina. La proteomica dello sperma umano indica anche che queste cellule posseggono i due recettori per l'angiotensina II: il recettore di tipo 1 (AT1R) e tipo 2 (AT2R).

Gli spermatozoi hanno il repertorio completo degli enzimi e dei recettori di elaborazione dei ligandi necessari per signaling dell'angiotensina, sollevando interrogativi sui ruoli fisiologici che queste vie potrebbero giocare e come potrebbero intersecarsi con COVID-19

ACE1 è una proteina antichissima la cui comparsa precede l'evoluzione del

sistema di angiotensina. Di conseguenza, sono probabili funzioni diverse dall'elaborazione dell'angiotensina. Nonostante tali somiglianze, Sars-Cov-2 non interferisce con le funzioni di ACE1 e, di conseguenza, una delle conseguenze dell'infezione è quello di generare un aumento della disponibilità di angiotensina II rispetto all'angiotensina.

### COSA SIGNIFICA QUESTO IN TERMINI DI BIOLOGIA DEGLI SPERMATOZOI?

Per analogia con le cellule somatiche, ci si aspetta che un attacco di Sars-Cov-2 sugli spermatozoi umani abbia un impatto su ACE2, attività che porta ad un accumulo di angiotensina II. Una maggiore disponibilità locale di angiotensina II: aumenta la fagocitosi spermatica da parte dei neutrofili con aumento della disponibilità locale di specie reattive dell'ossigeno (ROS) generate durante il processo di fagocitosi. Causa inoltre l'eccessiva stimolazione di AT1R che aumenta la generazione di ROS e induce così apoptosi e senescenza cellulare.

Il recettore AT2R, invece, sembra essere importante per la regolazione della motilità degli spermatozoi in risposta all'angiotensina II generata a partire dalla ACE1.

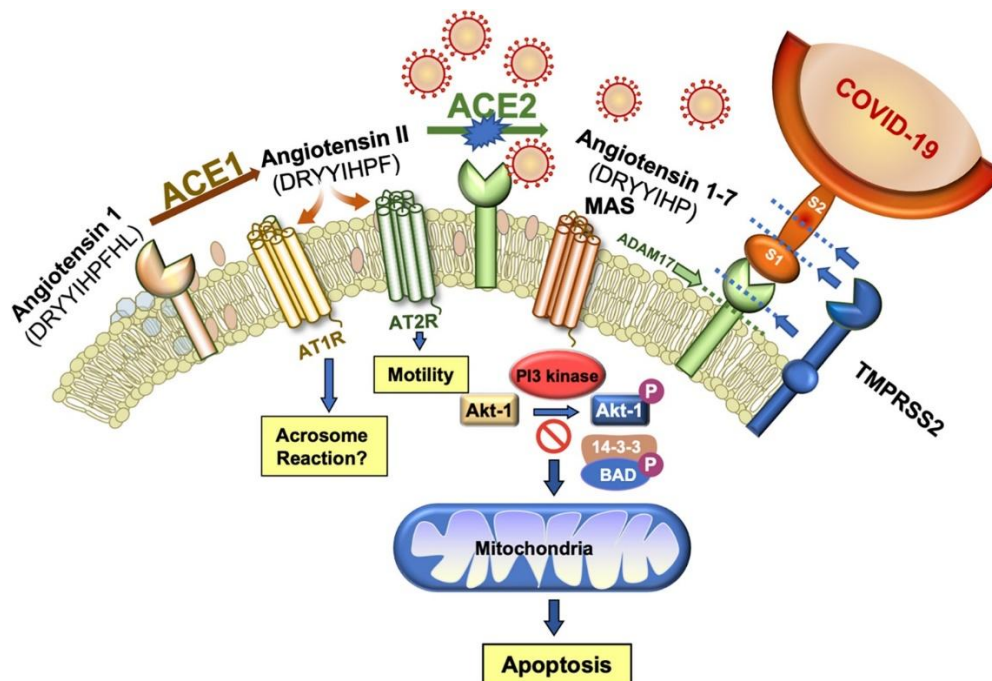


Fig. 3: impatto su ACE2 dell'attacco di Sars-Cov-2 sugli spermatozoi umani, schema

Il sistema dell'angiotensina gioca un ruolo fondamentale nella sopravvivenza e nella funzionalità degli spermatozoi umani, ma crea anche una vulnerabilità all'attacco COVID-19. L'angiotensina 1 è un decapeptide biologicamente inattivo che viene scisso da ACE1 per creare angiotensina II, che a sua volta attiva i recettori AT1R e AT2R, entrambi presenti in queste cellule. L'angiotensina II viene ulteriormente elaborata da ACE2 per generare angiotensina che si lega al recettore MAS attivando PI3K. Quest'ultimo quindi fosforila AKT, che mantiene la vitalità cellulare fosforilando i regolatori chiave dell'apoptosi spermatica come BAD. Finché BAD è fosforilato, è tenuto in sospenso da una proteina custode. Tuttavia, se la via PI3 / AKT viene compromessa, BAD defosforila, viene rilasciato dalla sua associazione con 14-3-3 e si sposta nei mitocondri dove inattiva i fattori anti-apoptotici e promuove la cascata apoptotica intrinseca. La proteina spike di COVID-19 prende di mira specificamente ACE2 e così facendo rimuove un importante stimolo per PI3K / AKT, compromettendo così la vitalità dello sperma. Successivamente al legame COVID-19, l'ectodominio di ACE2 può essere rimosso dalle proteasi di ADAM e liberato dalla superficie dello sperma. In alternativa, le proteasi della famiglia TMPRSS, come componenti intrinseche della membrana

plasmatica dello sperma o rilasciate dai prostasomi seminali, possono facilitare la fusione tra il virus e la superficie dello sperma scindendo l'ACE2 e le proteine virali spike (S1 e S2) nei siti indicati completando così la trasformazione di questa cellula dalla procreazione del gamete al vettore virale.

Ad oggi, ci sono state poche opportunità di studiare la competenza riproduttiva dei pazienti che si sono ripresi dall'infezione da COVID-19. Ci sono informazioni che dovremmo acquisire e studi che dovremmo effettuare.

Al momento, non conosciamo le condizioni che regolano l'attivazione relativa di AT1R vs AT2R da parte dell'angiotensina II negli spermatozoi, né comprendiamo appieno le conseguenze biologiche dell'attivazione di questi specifici recettori. Ci sono possibili conseguenze della sovraregolazione dell'angiotensina II conseguente all'infezione da COVID-19 in diversi stadi dello spermatozoo in viaggio dall'epitelio seminifero all'eiaculato. Dovremo anche valutare la misura in cui COVID-19 innesca il rilascio anticipato di ACE2 dalla superficie dello sperma e se la **perdita di questo enzima porta ad un aumento del tasso di senescenza spermatica e cellulare**. Ancora più importante, dovremo indagare sulla competenza degli spermatozoi, in diversi stadi di maturazione epididimale e attivazione post - eiaculatoria, di fondersi con questo coronavirus e trascrivere il suo genoma per creare il DNA corrispondente. Ciò che accade successivamente, quando RNA virale e DNA provirale vengono rilasciati nell'ovocita durante la fecondazione è una questione cruciale che dovrà essere affrontata in particolare se, come previsto, i pazienti post - COVID - 19 finiscono per richiedere tecniche di riproduzione assistita per risolvere i loro problemi di infertilità.

**Ma se, come è stato ampiamente dibattuto, è possibile che l'RNA esogeno (anche quello vaccinale) sia retrotrascritto ed espresso a livello spermatico viene da chiedersi se, in conseguenza del vaccino, non sia possibile ottenere la trascrizione nel liquido spermatico e nei tubuli seminiferi della spike vaccinale. Si può desumere che se questo fenomeno avvenisse avremmo la presenza di proteina spike vaccinale, diversa da quella virale, che spiazzata dal recettore ACE2 il suo ligando naturale, causando l'accumulo di Angiotensina 2 (a danno dell'angiotensina) con conseguente interazione di quest'ultima con il recettore AT2 e secondario innesco della cascata citochinica locale e secondo un gradiente tissutale e senescenza prematura delle cellule germinali. Non possiamo escludere, con buona plausibilità biologica, che il vaccino a RNA possa essere in ultima analisi pregiudiziale alla fertilità. L'ipotesi è talmente plausibile che sono in corso 2 trials clinici (Ramasamy , Miami e Haal, Israele) che stanno indagando l'ipotesi di danno da vaccino alla fertilità maschile. Il trial clinico si chiuderà uno a giugno 2021 e l'altro a maggio 2021.**

**Precauzionalmente non è etico, fino alla chiusura dei lavori o fino a quando non saranno avviati maggiori studi di sicurezza, ipotizzare la fertilità del genere umano per opera di uno scellerato e intempestivo obbligo vaccinale.**

**Le case farmaceutiche produttrici del resto non hanno pubblicato dati in merito agli effetti dei vaccini BNT162b2 e CX-024414 sulla fertilità nei modelli sperimentali animali in vivo e quindi al momento ignoti**

## **CONSIDERAZIONI FINALI**

Le ricerche di Spadafora, Sciamanna et al parlano chiaro. Molecole di RNA esogeno circolante penetrate nel torrente circolatorio degli esseri umani possono raggiungere il liquido seminale e gli spermatozoi e consente loro di acquisire una nuova informazione genetica, trasmissibile in contrasto con le modalità mendeliane classiche.

**La progenie dei vaccinati dell'anno 2021 possiede l'informazione epigenetica per esprimere in modo stabile, casuale, tessuto-specifica, la proteina spike vaccinale?**

La proteina spike sembra essere l'effettore di molta parte del danno tissutale operato da SarsCov2 ed è l'elemento che ha consentito al virus, innocuo o a bassa patogenicità nelle precedenti epidemie zoonotiche, di assurgere al responsabile della pandemia in atto.

L'espressione della proteina **spike vaccinale**, grazie al vaccino assunta a ruolo di carattere genetico stabile, per effetto di un trigger qualsiasi nel corso della vita di un individuo può avere conseguenze imponderabili e non prevedibili oggi senza opportuni dati scientifici che dovranno essere prodotti con metodo scientifico e rigoroso negli anni a venire.

## BIBLIOGRAFIA

- 1 - Robert John Aitken COVID-19 and human spermatozoa—Potential risks for infertility and sexual transmission? *Andrology*.2021;9:48–52, <https://doi.org/10.1111/andr.12859>
- 2 - Tielking K, Fischer S, Preissner KT, Vajkoczy P and Xu R (2019) Extracellular RNA in Central Nervous System Pathologies. *Front. Mol. Neurosci.* 12:254. doi: 10.3389/fnmol.2019.00254
- 3 - Adeline Galvanin, Gabriel Dostert, Lilia Ayadi, Virginie Marchand, Émilie Velot, Yuri Motorin, Diversity and heterogeneity of extracellular RNA in human plasma, *Biochimie*, 164:22-36, 2019
- 4 - Li D, Jin M, Bao P, Zhao W, Zhang S. Clinical characteristics and results of semen tests among men with coronavirus disease. *JAMA Netw Open*. 2020;3: e208292.
- 5 - Rossella Talotta Do COVID-19 RNA-based vaccines put at risk of immune-mediated diseases? In reply to “potential antigenic cross-reactivity between SARS-CoV-2 and human tissue with a possible link to an increase in autoimmune diseases” *Clinical Immunology* 224 (2021) 108665
- 6 - Ilaria Sciamanna, Patrizia Vitullo, Angela Curatolo, Corrado Spadafora, Retrotransposons, reverse transcriptase and the genesis of new genetic information, *Gene*, 448,2:180-186, 2009, <https://doi.org/10.1016/j.gene.2009.07.011>.
- 7 - Zhou L-q (2021) Exogenous Coronavirus Interacts With Endogenous Retrotransposon in Human Cells. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 11:609160. doi:
- 8 - Caroline Atyeo<sup>1,2\*</sup>, Elizabeth A. DeRiso<sup>1\*</sup>, Christine Davis<sup>3</sup>, Evan A. Bordt<sup>4</sup>, Rose M. DeGuzman<sup>5,6</sup>, Lydia L. Shook<sup>5,6</sup>, Lael M. Yonker<sup>7</sup>, Alessio Fasano<sup>7</sup>, Babatunde Akinwunmi<sup>8</sup>, COVID-19 mRNA vaccines drive differential Fc-functional profiles in pregnant, lactating, and non-pregnant women Douglas A. Lauffenburger<sup>3</sup>, Michal A. Elovitz<sup>9</sup>, Kathryn J. Gray<sup>8&\*</sup>, Andrea G. Edlow <sup>5,6&\*</sup>, and Galit Alter<sup>1&\*</sup> bioRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2021.04.04.438404>; this version posted April 5, 2021.
- 9 - “Spadafora C (2017) Sperm-Mediated Transgenerational Inheritance. *Front. Microbiol.* 8:2401. doi: 10.3389/fmicb.2017.02401tratto: Corrado Spadafora. “Spermatozoa in Non-Mendelian Inheritance”. Apple Books.
- 10 - Belleannée, C., Calvo, E., Caballero, J., and Sullivan, R. (2013). Epididymosomes convey different repertoires of microRNAs throughout the bovine epididymis. *Biol. Reprod.* 89:30. doi: 10.1095/biolreprod.113.110486
- 11 - Beraldi, R., Pittoggi, C., Sciamanna, I., Mattei, E., and Spadafora, C. (2006). Expression of LINE-1 retroposons is essential for murine preimplantation development. *Mol. Reprod. Dev.* 3, 279–287. doi: 10.1002/mrd.20423
- 12 - Brieno-Enriquez, M. A., Garcia-Lopez, J., Cardenas, D. B., Guibert, S., Cleroux, E., Ded, L., et al. (2015). Exposure to endocrine disruptor induces transgenerational epigenetic deregulation of microRNAs in primordial germ cells. *PLOS ONE* 10: e0124296. doi: 10.1371/journal.pone.0124296



- 13 - Carone, B. R., Fauquier, L., Habib, N., Shea, J. M., Hart, C. E., Li, R., et al. (2010). Paternally induced transgenerational environmental reprogramming of metabolic gene expression in mammals. *Cell* 143, 1084–1096. doi: 10.1016/j.cell.2010.12.008
- 14 - Chen, L., Dahlstrom, J. E., Lee, S. H., and Rangasamy, D. (2012). Naturally occurring endo-siRNA silences LINE-1 retrotransposons in human cells through DNA methylation. *Epigenetics* 7, 758–771. doi: 10.4161/epi.20706
- 15 - Chen, Q., Yan, M., Cao, Z., Li, X., Zhang, Y., Shi, J., et al. (2016a). Sperm tsRNAs contribute to intergenerational inheritance of an acquired metabolic disorder. *Science* 351, 397–400. doi: 10.1126/science.aad7977
- 16 - Chen, Q., Yan, W., and Duan, E. (2016b). Epigenetic inheritance of acquired traits through sperm RNAs and sperm RNA modifications. *Nat. Rev. Genet.* 17, 733–743. doi: 10.1038/nrg.2016.106
- 17 - Cossetti, C., Lugini, L., Astrologo, L., Saggio, I., Fais, S., and Spadafora, C. (2014). Soma-to-germline transmission of RNA in mice xenografted with human tumour cells: possible transport by exosomes. *PLOS ONE* 9: e101629. doi: 10.1371/journal.pone.0101629
- 18 - De Luca, C., Guadagni, F., Sinibaldi-Vallebona, P., Sentinelli, S., Gallucci, M., Hoffmann, A., et al. (2016). Enhanced expression of LINE-1-encoded ORF2 protein in early stages of colon and prostate transformation. *Oncotarget* 7, 4048–4061. doi: 10.18632/oncotarget.6767
- 19 - Dias, B. G., and Ressler, K. J. (2014). Parental olfactory experience influences behavior and neural structure in subsequent generations. *Nat. Neurosci.* 17, 89–96. doi: 10.1038/nn.3594
- 20 - Eaton, S. A., Jayasooriah, N., Buckland, M. E., Martin, D. I. K., Cropley, J. E., and Suter, C. M. (2015). Roll over weismann: extracellular vesicles in the transgenerational transmission of environmental effects. *Epigenomics* 7, 1165–1171. doi: 10.2217/epi.15.58
- 21 - Ebert, M. S., and Sharp, P. A. (2012). Roles for MicroRNAs in conferring robustness to biological processes. *Cell* 149, 515–524. doi: 10.1016/j.cell.2012.04.005
- 22 - Erwin, D. H., Laflamme, M., Tweedt, S. M., Sperling, E. A., Pisani, D., and Peterson, K. J. (2011). The cambrian conundrum: early divergence and later ecological success in the early history of animals. *Science* 334, 1091–1097. doi: 10.1126/science.1206375
- 23 - Fadloun, A., Le Gras, S., Jost, B., Ziegler-Birling, C., Takahashi, H., Gorab, E., et al. (2013). Chromatin signatures and retrotransposon profiling in mouse embryos reveal regulation of LINE-1 by RNA. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 20, 332–338. doi: 10.1038/nsmb.2495
- 24 - Fullston, T., Ohlsson Teague, E. M., Palmer, N. O., DeBlasio, M. J., Mitchell, M., Corbett, M., et al. (2013). Paternal obesity initiates metabolic disturbances in two generations of mice with incomplete penetrance to the F2 generation and alters the transcriptional profile of testis and sperm microRNA content. *FASEB J.* 27, 4226–4243. doi: 10.1096/fj.12-224048
- 25 - Fuster, C. D., Farrell, D., Stern, F. A., and Hecht, N. B. (1977). RNA polymerase activity in bovine spermatozoa. *J. Cell Biol.* 74, 698–706. doi: 10.1083/jcb.74.3.698
- 26 - Gapp, K., Jawaid, A., Sarkies, P., Bohacek, J., Pelczar, P., Prados, J., et al. (2014). Implication of sperm RNAs in transgenerational inheritance of the effects of early trauma in mice. *Nat. Neurosci.* 17, 667–669. doi: 10.1038/nn.3695
- 27 - Giordano, R., Magnano, A. R., Zaccagnini, G., Pittoggi, C., Moscufo, N., Lorenzini, R., et al. (2000). Reverse transcriptase activity in mature spermatozoa of mouse. *J. Cell Biol.* 148, 1107–1113. doi: 10.1083/jcb.148.6.1107

- 28 - Grandjean, V., Fourré, S., De Abreu, D. A. F., Derieppe, M.-A., Remy, J.-J., and Rassoulzadegan, M. (2015). RNA-mediated paternal heredity of diet-induced obesity and metabolic disorders. *Sci. Rep.* 5:18193. doi: 10.1038/srep18193
- 29 - Grunewald, S., Paasch, U., Glander, H. J., and Andereg, U. (2005). Mature human spermatozoa do not transcribe novel RNA. *Andrologia* 37, 69–71. doi: 10.1111/j.1439-0272.2005.00656.x
- 30 - Holterhoff, K. (2014). The history and reception of Charles Darwin's hypothesis of pangenesis. *J. Hist. Biol.* 47, 661–695. doi: 10.1007/s10739-014-9377-9377-0
- 31 - Hornstein, E., and Shomron, N. (2006). Canalization of development by microRNAs. *Nat. Genet.* 38(Suppl.), S20–S24. doi: 10.1038/ng1803
- 32 - Hug, C. B., Grimaldi, A. G., Kruse, K., and Vaquerizas, J. M. (2017). Chromatin architecture emerges during zygotic genome activation independent of transcription. *Cell* 169, 216–228. doi: 10.1016/j.cell.2017.03.024
- 33 - Huypens, P., Sass, S., Wu, M., Dyckhoff, D., Tschöep, M., Theis, F., et al. (2016). Epigenetic germline inheritance of diet-induced obesity and insulin resistance. *Nat. Genet.* 48, 497–499. doi: 10.1038/ng.3527
- 34 - Jodar, M., Selvaraju, S., Sendler, E., Diamond, M. P., Krawetz, S. A., and Reproductive Medicine Network (2013). The presence, role and clinical use of spermatozoal RNAs. *Hum. Reprod. Update* 19, 604–624. doi: 10.1093/humupd/dmt031
- 35 - Kawano, M., Kawaji, H., Grandjean, V., Kiani, J., and Rassoulzadegan, M. (2012). Novel small noncoding RNAs in mouse spermatozoa, zygotes and early embryos. *PLOS ONE* 7:e44542. doi: 10.1371/journal.pone.0044542
- 36 - Klosin, A., and Lehner, B. (2016). Mechanisms, timescales and principles of trans-generational epigenetic inheritance in animals. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 36, 41–49. doi: 10.1016/j.gde.2016.04.001
- 37 - Krawetz, S. A., Kruger, A., Lalancette, C., Tagett, R., Anton, E., Draghici, S., et al. (2011). A survey of small RNAs in human sperm. *Hum. Reprod.* 26, 3401–3412. doi: 10.1093/humrep/der329
- 38 - Lee, H. J., Hore, T. A., and Reik, W. (2014). Reprogramming the methylome: erasing memory and creating diversity. *Cell Stem Cell* 14, 710–719. doi: 10.1016/j.stem.2014.05
- 39 - Li, X., Cassidy, J. J., Reinke, C. A., Fischboeck, S., and Carthew, R. W. (2009). A microRNA imparts robustness against environmental fluctuation during development. *Cell* 137, 273–282. doi: 10.1016/j.cell.2009.01.058
- 40 - Li, Z., Wan, H., Feng, G., Wang, L., He, Z., Wang, Y., et al. (2016). Birth of fertile bimaternal offspring following intracytoplasmic injection of parthenogenetic haploid embryonic stem cells. *Cell Res.* 26, 135–138. doi: 10.1038/cr.2015.151
- 41 - Liebers, R., Rassoulzadegan, M., and Lyko, F. (2014). Epigenetic regulation by heritable RNA. *PLOS Genet.* 10:e1004296. doi: 10.1371/journal.pgen.1004296
- 42 - Lu, J., Getz, G., Miska, E. A., Alvarez-Saavedra, E., Lamb, J., Peck, D., et al. (2005). MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature* 435, 834–838. doi: 10.1038/nature03702
- 43 - Macia, A., Muñoz-Lopez, M., Cortes, J. L., Hastings, R. K., Morell, S., Lucena-Aguilar, G., et al. (2011). Epigenetic control of retrotransposon expression in human embryonic stem cells. *Mol. Cell. Biol.* 31, 300–316. doi: 10.1128/MCB.00561-10
- 44 - Marczylo, E. L., Amoako, A. A., Konje, J. C., Gant, T. W., and Marczylo, T. H. (2012). Smoking induces differential miRNA expression in human spermatozoa: a potential transgenerational epigenetic concern? *Epigenetics* 7, 432–439. doi: 10.4161/epi.19794
- 45 - Miller, D. (2014). Sperm RNA as a mediator of genomic plasticity. *Adv. Biol.* 2014:179701. doi: 10.1155/2014/179701

- 46 - Nixon, B., Stanger, S. J., Mihalas, B. P., Reilly, J. N., Anderson, A. L., Tyagi, S., et al. (2015). The microRNA signature of mouse spermatozoa is substantially modified during epididymal maturation. *Biol. Reprod.* 93, 91. doi: 10.1095/biolreprod.115.132209
- 47 - Ostermeier, G. C., Miller, D., Huntriss, J. D., Diamond, M. P., and Krawetz, S. A. (2004). Reproductive biology: delivering spermatozoan RNA to the oocyte. *Nature* 429:154. doi: 10.1038/429154°
- 48 - Pittoggi, C., Beraldi, R., Sciamanna, I., Barberi, L., Giordano, R., Magnano, A. R., et al. (2006). Generation of biologically active retro-genes upon interaction of mouse spermatozoa with exogenous DNA. *Mol. Reprod. Dev.* 73, 1239–1246. doi: 10.1002/mrd.2055
- 49 - Pittoggi, C., Sciamanna, I., Mattei, E., Beraldi, R., Lobascio, A. M., Mai, A., et al. (2003). Role of endogenous reverse transcriptase in murine early embryo development. *Mol. Reprod. Dev.* 66, 225–236. doi: 10.1002/mrd.10349
- 50 - Rassoulzadegan, M., Grandjean, V., Gounon, P., Vincent, S., Gillot, I., and Cuzin, F. (2006). RNA mediated non-mendelian inheritance of an epigenetic change in the mouse. *Nature* 441, 469–474. doi: 10.1038/nature04674
- 51 - Reilly, J. N., McLaughlin, E. A., Stanger, S. J., Anderson, A. L., Hutcheon, K., Church, K., et al. (2016). Characterisation of mouse epididymosomes reveals a complex profile of microRNAs and a potential mechanism for modification of the sperm epigenome. *Sci. Rep.* 6:31794. doi: 10.1038/srep31794
- 52 - Rodgers, A. B., Morgan, C. P., Bronson, S. L., Revello, S., and Bale, T. L. (2013). Paternal stress exposure alters sperm microRNA content and reprograms offspring HPA stress axis regulation. *J. Neurosci.* 33, 9003–9012. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0914-13.2013
- 53 - Rodgers, A. B., Morgan, C. P., Leu, N. A., and Bale, T. L. (2015). Transgenerational epigenetic programming via sperm microRNA recapitulates effects of paternal stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 112, 13699–13704. doi: 10.1073/pnas.1508347112
- 54 - Sciamanna, I., Barberi, L., Martire, A., Pittoggi, C., Beraldi, R., Giordano, R., et al. (2003). Sperm endogenous reverse transcriptase as mediator of new genetic information. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 312, 1039–1046. doi: 10.1016/j.bbrc.2003.11.024
- 55 - Sciamanna, I., Gualtieri, A., Cossetti, C., Osimo, E. F., Ferracin, M., Macchia, G., et al. (2013). A tumor-promoting mechanism mediated by retrotransposon-encoded reverse transcriptase is active in human transformed cell lines. *Oncotarget* 4, 2271–2287. doi: 10.18632/oncotarget.1403
- 56 - Sciamanna, I., Gualtieri, A., Piazza, P. V., and Spadafora, C. (2014). Regulatory roles of LINE-1-encoded reverse transcriptase in cancer onset and progression. *Oncotarget* 5, 8039–8051. doi: 10.18632/oncotarget.2504
- 57 - Sandler, E., Johnson, G. D., Mao, S., Goodrich, R. J., Diamond, M. P., Hauser, R., et al. (2013). Stability, delivery and functions of human sperm RNAs at fertilization. *Nucleic Acids Res.* 41, 4104–4117. doi: 10.1093/nar/gkt132
- 58 - Sharma, U., Conine, C. C., Shea, J. M., Boskovic, A., Derr, A. G., Bing, X. Y., et al. (2016). Biogenesis and function of tRNA fragments during sperm maturation and fertilization in mammals. *Science* 351, 391–396. doi: 10.1126/science.aad6780
- 59 - Sinibaldi-Vallebona, P., Matteucci, C., and Spadafora, C. (2011). Retrotransposon-encoded reverse transcriptase in the genesis, progression and cellular plasticity of human cancer. *Cancers* 3, 1141–1157. doi: 10.3390/cancers3011141
- 60 - Smith, K., and Spadafora, C. (2005). Sperm-mediated gene transfer: applications and implications. *Bioessays* 27, 551–562. doi: 10.1002/bies.20211

- 61 - Smith, Z. D., Chan, M. M., Humm, K. C., Karnik, R., Mekhoubad, S., Regev, A., et al. (2014). DNA methylation dynamics of the human preimplantation embryo. *Nature* 511, 611–615. doi: 10.1038/nature13581
- 62 - Spadafora, C. (1998). Sperm cells and foreign DNA: a controversial relation. *Bioessays* 20, 955–964. doi: 10.1002/(SICI)1521-1878(199811)20:11<955::AID-BIES11>3.0.CO;2-8
- 63 - Spadafora, C. (2008). Sperm-mediated 'reverse' gene transfer: a role of reverse transcriptase in the generation of new genetic information. *Hum. Reprod.* 23, 735–740. doi: 10.1093/humrep/dem425
- 64 - Suh, N., Baehner, L., Moltzahn, F., Melton, C., Shenoy, A., Chen, J., et al. (2010). MicroRNA function is globally suppressed in mouse oocytes and early embryos. *Curr. Biol.* 20, 271–277. doi: 10.1016/j.cub.2009.12.044
- 65 - Tang, F., Kaneda, M., O'Carroll, D., Hajkova, P., Barton, S. C., Sun, Y. A., et al. (2007). Maternal microRNAs are essential for mouse zygotic development. *Genes Dev.* 21, 644–648. doi: 10.1101/gad.418707
- 66 - Vidigal, J. A., and Ventura, A. (2015). The biological functions of miRNAs: lessons from in vivo studies. *Trends Cell Biol.* 25, 137–147. doi: 10.1016/j.tcb.2014.11.004
- 67 - Vitullo, P., Sciamanna, I., Baiocchi, M., Sinibaldi-Vallebona, P., and Spadafora, C. (2012). LINE-1 retrotransposon copies are amplified during murine early embryo development. *Mol. Reprod. Dev.* 79, 118–127. doi: 10.1002/mrd.22003
- 68 - Vojtech, L., Woo, S., Hughes, S., Levy, C., Ballweber, L., Sauteraud, L. P., et al. (2014). Exosomes in human semen carry a distinctive repertoire of small non-coding RNAs with potential regulatory functions. *Nucleic Acids Res.* 42, 7290–7304. doi: 10.1093/nar/gku347
- 69 - Waddington, C. H. (1959). Canalization of development and genetic assimilation of acquired characters. *Nature* 183, 1654–1655. doi: 10.1038/1831654a0
- 70 - Wheeler, B. M., Heimberg, A. M., Moy, V. N., Sperling, E. A., Holstein, T. W., Heber, S., et al. (2009). The deep evolution of metazoan microRNAs. *Evol. Dev.* 11, 50–68. doi: 10.1111/j.1525-142X.2008.00302.x
- 71 - Zhong, C., Xie, Z., Yin, Q., Dong, R., Yang, S., Wu, Y., et al. (2016). Parthenogenetic haploid embryonic stem cells efficiently support mouse generation by oocyte injection. *Cell Res.* 26, 131–134. doi: 10.1038/cr.2015.132
- 72 - [https://farmaci.agenziafarmaco.gov.it/aifa/servlet/PdfDownloadServlet?pdfFileName=footer\\_005389\\_049269\\_FI.pdf&retry=0&sys=m0b1l3](https://farmaci.agenziafarmaco.gov.it/aifa/servlet/PdfDownloadServlet?pdfFileName=footer_005389_049269_FI.pdf&retry=0&sys=m0b1l3)
- 73 - [https://farmaci.agenziafarmaco.gov.it/aifa/servlet/PdfDownloadServlet?pdfFileName=footer\\_005438\\_049283\\_FI.pdf&retry=0&sys=m0b1l3](https://farmaci.agenziafarmaco.gov.it/aifa/servlet/PdfDownloadServlet?pdfFileName=footer_005438_049283_FI.pdf&retry=0&sys=m0b1l3)
- 74 - <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04665258?cond=infertility+male+vaccine&draw=2&rank=1>
- 75 - <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04778033?cond=infertility+male+vaccine&draw=2&rank=2>

## ALLEGATO 3: LA PROTEINA SPIKE VACCINALE PUÒ PRODURRE DANNI CLINICI?

È noto che la proteina spike del virus chiamato Sars-CoV-2 espone i determinanti antigenici o epitopi che legano l'enzima di conversione dell'angiotensina-2 (ACE2), determinando i disordini vascolari che contribuiscono alla malattia detta covid-19.

Se questo accade con l'infezione, perché non dovrebbe accadere anche quando la proteina viene fatta produrre dal nostro organismo da uno dei quattro trattamenti genici sperimentali oggi in uso nel nostro Paese, chiamati vaccini?

Possiamo precisare che si tratta di ipotesi teoriche da verificare sperimentalmente, questa è scienza. E non potrebbe essere diverso, essendo gli stessi farmaci in un ambito sperimentale nel quale queste ipotesi hanno assunto consistenza in più occasioni.

Come scrive il professor Paolo Bellavite "Purtroppo si sa poco di quante spike sono prodotte dalle cellule in cui è entrato il mRNA, quali cellule sono interessate e per quanto tempo.", perciò è difficile fare previsioni.

Il professore, nel suo lavoro intitolato "Renin-Angiotensin System, SARS-CoV-2 and Hypotheses about Some Adverse Effects Following Vaccination" [1] scrive:

*[...] "è possibile ipotizzare che possano insorgere disturbi della pressione del sangue, delle chinine e dell'aggregazione piastrinica anche per l'azione delle proteine spike prodotte a seguito della vaccinazione coi prodotti biotecnologici attualmente in uso (a mRNA e vettori adenovirali). Di conseguenza, uno squilibrio della pressione sanguigna potrebbe insorgere inaspettatamente in due direzioni opposte: a) ipotensione, nel caso in cui le nuove proteine spike attivino la funzione enzimatica di ACE2 nel plasma o nella membrana cellulare, oppure b) rapido aumento della pressione sanguigna e infiammazione sistemica, nel caso in cui le proteine spike si leghino a sACE2 e vengano poi eliminate da anticorpi di nuova formazione."*

Il professor Bellavite non è stato l'unico a preoccuparsi degli effetti patologici della spike prodotta dai cosiddetti vaccini. In una lettera alla FDA (Food and Drug Administration, USA, equivalente alle nostre EMA ed AIFA) scritta su richiesta di un commento l'8 dicembre 2020, il pediatra reumatologo Patrick Whelan della Divisione di Immunologia, Allergia e Reumatologia dell'Università della California a Los Angeles (UCLA), specialista della sindrome infiammatoria multisistemica nei bambini, esprime preoccupazione ancora sulla proteina spike prodotta da questi farmaci, "riguardo la possibilità che i nuovi vaccini volti a creare immunità contro la proteina spike SARS-CoV-2 (compresi i vaccini mRNA di Moderna e Pfizer) abbiano il potenziale di causare danni microvascolari a cervello, cuore, fegato e reni in un modo che attualmente non sembra essere valutato negli studi sulla sicurezza di questi farmaci." [2]

Il dottor Whelan a sostegno della propria tesi porta la discussione di tre studi, delle loro conclusioni e di altre verifiche sperimentali da lui stesso eseguite. Questa discussione è contenuta alle pagine 28 e 29 dell'opera della dottoressa Bolgan appena citata.

Un altro studio presentato nell'aprile 2021 sulla rivista "Circulation Research" è intitolato "SARS-CoV-2 Spike Protein Impairs Endothelial Function via Downregulation of ACE 2" (La proteina spike del Sars- Cov-2 inibisce la funzione endoteliale attraverso la regolazione al ribasso di ACE2).

L'ipotesi presentata vede la proteina spike come disregolatore delle funzioni endoteliale e mitocondriale.

Si afferma tra l'altro "Anche se l'uso di uno pseudovirus non infettivo è una limitazione a questo studio, i nostri dati rivelano che la proteina S da sola può danneggiare l'endotelio, manifestato dalla funzione mitocondriale compromessa e attività eNOS ma aumentata glicolisi." [3]

Il punto è davvero, come scrive il dottor Whelan, quanto queste ipotesi siano state valutate negli studi sui profili di sicurezza dei farmaci genici Pfizer, Moderna, AstraZeneca e Janssen (Johnson&Johnson) in uso presso di noi, o almeno se qualcuno nel mondo stia facendo farmacovigilanza attiva per valutare effetti collaterali indesiderati.

## **BIBLIOGRAFIA**

- 1 - <https://sfero.me/article/renina-angiotensina-covid-19-vaccinazioni-caveat>
- 2 - “Tossicologia della spike”, Loretta Bolgan,  
[https://drive.google.com/file/d/1bBtm7gh2pgxz0srPkO5Ba\\_LKDxc-1kl/view](https://drive.google.com/file/d/1bBtm7gh2pgxz0srPkO5Ba_LKDxc-1kl/view)
- 3 - <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCRESAHA.121.318902>

## ALLEGATO 4: VACCINAZIONE IN PERSONE CON PREGRESSA INFEZIONE DA SARS-COV-2

L'Istituto Superiore di Sanità definisce il vaccino come uno strumento di sanità pubblica che ha l'obiettivo di simulare il primo contatto con uno specifico agente infettivo, evocando una risposta immunologica (immunità umorale e cellulare) simile a quella causata dall'infezione naturale. Il principio alla base di questo meccanismo è la memoria immunologica: la capacità del sistema immunitario di ricordare quali microrganismi estranei hanno attaccato il nostro organismo in passato e di rispondere velocemente [1].

Il CDC (Center for Disease Control and Prevention) utilizza le seguenti definizioni:

**Immunità:** protezione da una malattia infettiva. Se si è immuni a una malattia, si può essere esposti ad essa senza essere infettati.

**Vaccino:** prodotto che stimola il sistema immunitario di una persona a produrre immunità verso una specifica malattia, proteggendo la persona da quella malattia [2].

L'OMS spiega che i vaccini allenano il sistema immunitario a creare anticorpi, proprio come fa quando è esposto a una malattia [3].

Lo scopo di un vaccino è quindi quello di simulare un'infezione primaria per rendere il paziente immune (e quindi proteggerlo) dallo sviluppo della malattia.

Ne consegue che chi abbia già contratto e superato la malattia, sia stato già sottoposto a una sorta di "vaccinazione naturale". La questione si sposta quindi su quale sia la durata della protezione e la capacità di risposta dell'immunità cellulare e umorale attivatesi in seguito all'infezione.

Sappiamo che per alcuni virus la prima infezione può fornire un'immunità permanente, tra i quali virus a RNA come il morbillo o il parvovirus.

La durata dell'immunità in seguito a infezione di SARS-CoV-2 non è ancora nota con precisione, considerato il poco tempo trascorso dalla sua comparsa.

Si può fare però inizialmente riferimento a virus appartenenti alla stessa famiglia e quindi ad esso necessariamente simili. Una recente revisione sistematica [4] ha mostrato come nella famiglia dei coronavirus la maggior parte degli studi a lungo termine abbia rilevato IgG fino ad almeno 1 anno dall'avvenuta infezione e in alcuni studi fino a 3 anni dall'inizio dei sintomi.

Come sottolinea il Prof. Girolandino nell'abstract di un articolo di prossima pubblicazione [5], gli studi sulla memoria immunitaria delle cellule di memoria T sono state rilevate anche 17 anni dopo l'avvenuta infezione da SARS-CoV. Alcuni studi riscontrano inoltre cellule B della memoria fino a 6 anni e altri anticorpi fino a 17 anni dopo aver contratto il virus.

In merito al Sars-CoV-2 diversi studi hanno mostrato come sia trascurabile il rischio di reinfezione in pazienti guariti dalla malattia. La metanalisi di Arfkas [6] non rileva casi di reinfezione che si verificano al di fuori del lasso di tempo di 90 giorni e gli autori sottolineano come qualsiasi ricaduta entro un periodo di 90 giorni potrebbe essere un'infezione iniziale protratta e non una reinfezione. Gli autori hanno osservato che le ricadute dei sintomi clinici sembravano colpire prevalentemente i soggetti più anziani, facendo pensare a una recidiva causata da cure inadeguate o a un'eventuale complicanza secondaria come l'embolia polmonare o la sovra-infezione.

In questo senso sottolineano come sia difficile distinguere tra le varie possibilità in un periodo di tempo in cui le tracce di RNA virale della primitiva infezione sono ancora rilevabili nei campioni respiratori. Concludono quindi che per diagnosticare una vera reinfezione da Covid 19 sia necessario un test Covid-19

positivo combinato con sintomi clinici ricorrenti che si verificano al di fuori dei 90 giorni, confermando in questo modo l'assenza di reinfezioni nel campione da loro esaminato.

In una revisione della letteratura eseguita da Roberts et [7] al fino al 15 dicembre 2020, in cui venivano inclusi solo casi di reinfezione avvenuti ad almeno 12 settimane di distanza dalla prima o sostenuti da virus geneticamente diversi all'analisi del genoma virale, sono stati rilevati 23 casi di reinfezione a livello mondiale.

Nel suo editoriale, West [8] sottolinea come i 23 casi siano da rapportarsi a 115 milioni di casi di coronavirus in poco più di un anno ed evidenzia che, se l'immunità dovesse durare solo per un periodo di settimane o mesi, le popolazioni esposte ad un'alta prevalenza di Covid-19, come il Regno Unito, dovrebbero già rilevare un ampio numero di reinfezioni. Sostiene quindi che si possano già fare inferenze sul rischio di reinfezione dall'attuale proporzione di casi. Considerando i 23 casi rapportati su 115 milioni, si tratterebbe di 1 caso su 5 milioni, ma West esegue una serie di passaggi di "amplificazione" di questo numero fino a moltiplicarlo per 100000 e a mostrare come, anche in questo caso, le reinfezioni sarebbero in numero trascurabile (2% delle infezioni totali). West conclude sostenendo che la scarsità di casi confermati supporta il punto di vista che la reinfezione non è comune.

Sulla stessa linea è lo studio SIREN [9], uno studio prospettico eseguito sui 25661 sanitari del Regno Unito e quindi in persone ad alto rischio, di cui sono stati presentati i dati parziali a 7 mesi. In questo periodo si è rilevata una riduzione dell'incidenza di infezione di almeno il 90%, che arriva all'84% includendo i casi probabili e possibili. Gli autori ritengono che questo sia l'effetto minimo probabile, indicando che alcune di queste potenziali reinfezioni erano probabilmente rilevamento di RNA residuo a bassa prevalenza di popolazione piuttosto che vere reinfezioni e sottolineano come nessuna delle reinfezioni indicate è confermata dalle loro rigorose definizioni di caso.

Gli autori concludono che, dopo 7 mesi di follow up, questo grande studio osservazionale ha dimostrato che una precedente infezione da SARS-CoV-2 protegge la maggior parte degli individui dalla reinfezione per una media di 7 mesi (il tempo è necessariamente limitato dalla recente comparsa del virus, ma lo studio procede) supportando l'ipotesi che l'infezione primaria con SARS-CoV-2 fornisca un alto grado di immunità alle infezioni ripetute nel breve e medio termine.

Nel confronto con gli studi sulla vaccinazione contro la SARS-CoV-2 [10, 11], è emerso inoltre come la pregressa infezione dimostri una protezione equivalente o superiore all'infezione naturale, sia per l'infezione asintomatica che sintomatica.

Diversi studi hanno analizzato la correlazione tra presenza di anticorpi neutralizzanti e protezione dalla reinfezione e altri hanno valutato la permanenza di questi anticorpi nel tempo.

Nello studio di Addetia et al. [12] si è rilevato come presenza di anticorpi neutralizzanti da un'infezione precedente era significativamente associata alla protezione contro la reinfezione. Risultati analoghi sono emersi dallo studio di coorte longitudinale di Lumley et al. [13], che ha analizzato 1.265 operatori sanitari sieropositivi. È stato rilevato che una precedente infezione da SARS-CoV-2, che ha generato risposte anticorpali, ha offerto protezione dalla reinfezione per la maggior parte delle persone nei 6 mesi successivi all'infezione.

L'importanza degli anticorpi neutralizzanti e la loro permanenza almeno fino a 6 mesi dall'infezione è stata dimostrata da diversi studi. [14, 15, 16].

Ulteriori studi evidenziano inoltre come, anche quando si manifesta un diminuzione dei valori anticorpali permane una capacità di produrre anticorpi neutralizzanti, associata alla permanenza di un numero costante di cellule B di memoria RBD-specifiche fino a diversi mesi dopo l'infezione [17, 18].

Gaebler et al. rilevano come le cellule B di memoria mostrino un turnover clonale dopo 6,2 mesi, e gli anticorpi che esprimono hanno una maggiore ipermutazione somatica, resistenza alle mutazioni RBD e una maggiore potenza, indicativa di una continua evoluzione della risposta umorale [19].



In linea con questi dati è l'osservazione del Prof. Girolandino che, nell'abstract della revisione da lui curata, afferma "Nei prossimi mesi sono attesi molti più dati sulla memoria immunitaria scatenata dal virus, ma i dati finora indicano che è probabile che la memoria delle cellule T, la memoria delle cellule B e gli anticorpi "riattivati" da un successivo contatto, persisteranno per anni nella maggior parte delle persone infette da SARS-CoV-2" [20].

Alla luce di questi dati sarebbe necessario riflettere su ciò che si trova alla base di qualsiasi trattamento sanitario: il bilanciamento tra rischio e beneficio.

Il riscontro della persistenza di un'immunità umorale e cellulare in seguito a infezione di SARS-CoV-2 per almeno 6-7 mesi (considerando che il tempo è limitato da ovvie ragioni legate alla recente comparsa del virus e sarà da rivalutare alla luce della prosecuzione degli studi) riduce in maniera netta il potenziale beneficio di un'eventuale vaccinazione (essendo gli individui già immunizzati) e porta di conseguenza un relativo aumento del rischio relativo.

Come sappiamo, infatti, ogni trattamento sanitario presenta dei rischi e, in questo caso, gli eventi avversi successivi alla vaccinazione possono essere facilmente reperiti nelle banche dati di EMA ed AIFA.

Oltre a questo aspetto, si aggiunge il fatto che un recente studio [21] ha mostrato come una precedente infezione da SARS-CoV-2 sia associata a un aumento dell'8% del rischio di effetti collaterali dopo la prima dose del vaccino. È stato osservato un significativo aumento di febbre, dispnea (difficoltà respiratoria), sindrome simil-influenzale, astenia, dolori locali e "altro"; inoltre nei pazienti con precedente infezione, questi sintomi si sono manifestati in maniera più grave.

Il riscontro più importante è stato però il fatto che la pregressa infezione si è mostrata associata al rischio di sviluppare reazioni avverse gravi che hanno richiesto l'ospedalizzazione.

Gli autori concludono sottolineando come questo studio per la prima volta mostri una significativa associazione tra precedente infezione da Covid 19 e aumento della frequenza e della gravità delle reazioni avverse post vaccinali, aumentando la parte del "rischio" in un rapporto che già aveva visto sfumare il potenziale "beneficio".

## BIBLIOGRAFIA

1 - <https://www.epicentro.iss.it/vaccini/VacciniCosaSono>

2 - <https://www.cdc.gov/vaccines/vac-gen/imz-basics.htm>

3 - [https://www.who.int/health-topics/vaccines-and-immunization#tab=tab\\_2](https://www.who.int/health-topics/vaccines-and-immunization#tab=tab_2)

4 - Huang AT, Garcia-Carreras B, Hitchings MDT, Yang B, Katzelnick LC, Rattigan SM, Borgert BA, Moreno CA, Solomon BD, Rodriguez-Barraquer I, Lessler J, Salje H, Burke DS, Wesolowski A, Cummings DAT. A systematic review of antibody mediated immunity to coronaviruses: antibody kinetics, correlates of protection, and association of antibody responses with severity of disease, medRxiv 2020 Apr 17;2020.04.14.20065771. doi: 10.1101/2020.04.14.20065771

5 - [https://www.quotidianosanita.it/lettere-al-direttore/articolo.php?articolo\\_id=94408](https://www.quotidianosanita.it/lettere-al-direttore/articolo.php?articolo_id=94408)

6 - Arafkas M, Khosrawipour T., Kocbach P., Zielinski K., Schubert J., Mikolajczyk A., Celinska M., Khosrawipour V., Current meta-analysis does not support the possibility of COVID-19 reinfection

7 - Anna Teresa Roberts, Fiorella Piani, Benedetta Longo, Roberto Andreini & Simone Meini(2021) Reinfection of SARS-CoV-2 – analysis of 23 cases from the literature, Infectious Diseases, DOI: 10.1080/23744235.2021.1905174

8 - Jack West (2021) Covid-19 reinfection – what could the absence of evidence suggest?, Infectious Diseases, DOI: 10.1080/23744235.2021.1910339

- 9 - Hall V, Foulkes S, Charlett A, et al. Do antibody positive healthcare workers have lower SARS-CoV-2 infection rates than antibody negative healthcare workers? Large multi-centre prospective cohort study (the SIREN study), England: June to November 2020. medRxiv. 2021. DOI:10.1101/2021.01.13.21249642
- 10 - Voysey M, Clemens SAC, Madhi SA et al. Safety and efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine (AZD1222) against SARS-CoV-2: an interim analysis of four randomised controlled trials in Brazil, South Africa, and the UK. Lancet 2020Dec 08 doi
- 11 - Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, Lockhart S, Perez JL, Marc GP, Moreira ED, Zerbini C, Bailey R, Swanson KA et al. Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. New England Journal of Medicine. 2020 Dec 10; doi: DOI: 10.1056/NEJMoa2034577
- 12 - Addetia A, Crawford KHD, Dingens A, Zhu H, Roychoudhury P, Huang ML, Jerome KJ, Bloom JD, Greninger AL. Neutralizing Antibodies Correlate with Protection from SARS-CoV-2 in Humans during a Fishery Vessel Outbreak with a High Attack Rate. Journal of Clinical Microbiology. Vol 58. Issue 11. November 2020. Doi: 10.1128/JCM.02107-20
- 13 - Lumley SF, O'Donnell D, Stoesser NE, Matthews PC, Howarth A, Hatch SB, Marsden BD, Cox S, James T, Warren F, Peck LJ, Ritter TG, de Toledo Z, Warren L, Axten D, Cornall RJ, Jones EY, Stuart DI, Screatton G, Ebner D, Hoosdally S, Chand M, Crook DW, O'Donnell AM, Conlon CP, Pouwels KB, Walker AS, Peto TEA, Hopkins S, Walker TM, Jeffery K, Eyre DW, Oxford University Hospitals Staff Testing Group. Antibody Status and Incidence of SARS-CoV-2 Infection in Health Care Workers  
N Engl J Med. 2021 Feb 11; 384(6):533-540.
- 14 - Wajnberg A, Amanat F, Firpo A, Altman DR, Bailey MJ, Mansour M, McMahon M, Meade P, Mendu DR, Muellers K, Stadlbauer D, Stone K, Strohmeier S, Simon V, Aberg J, Reich DL, Krammer F, Cordon-Cardo C Robust neutralizing antibodies to SARS-CoV-2 infection persist for months. Science. 2020 Dec 4; 370(6521):1227-1230.
- 15 - Fergie J., Srivastava A., Immunity to SARS-CoV-2: Lessons Learned, Front immunol. 2021; 19 Mar 2021 doi 10.3389/fimmu.2021.654165
- 16 - Garcia-Beltran WF, Lam EC, Astudillo MG, Yang D, Miller TE, Feldman J, Hauser BM, Caradonna TM, Clayton KL, Nitido AD, Murali MR, Alter G, Charles RC, Dighe A, Branda JA, Lennerz JK, Lingwood D, Schmidt AG, Iafrate AJ, Balazs AB COVID-19-neutralizing antibodies predict disease severity and survival. Cell. 2021 Jan 21; 184(2):476-488.e11.
- 17 - Pradenas, E.; Trinité, B.; Urrea, V.; Marfil, S.; Ávila-Nieto, C.; Rodríguez de la Concepción, M.L.; Tarrés-Freixas, F.; Pérez-Yanes, S.; Roviroso, C.; Ainsua-Enrich, E.; et al. Stable neutralizing antibody levels six months after mild and severe COVID-19 episode. bioRxiv 2021.
- 18 - Gudbjartsson DF, Norddahl GL, Melsted P, et al. Humoral immune response to SARS-CoV-2 in Iceland.N Engl J Med. DOI: 10.1056/NEJMoa2026116.
- 19 - Gaebler C., Wang Z., Lorenzi J.C.C., Muecksch F., Finkin S., Tokuyama M., Cho A., Jankovic M., Schaefer-Babajew D., Oliveira T.Y. Evolution of Antibody Immunity to SARS-CoV-2. Nature. 2021 doi: 10.1038/s41586-021-03207-w. Published online January 4, 2021
- 20 - Cfr nota 5
- 21 - Mathioudakis A.G., Ghrew M., Ustianowski A., Ahmad S., Borrow R., Papavasileiou L.P., Petrakis D. and Bakerly N.D. Self-Reported Real-World Safety and Reactogenicity of COVID-19 Vaccines: A Vaccine Recipient Survey, Life 2021, 11, 249

## ALLEGATO 5: ENDPOINT EFFICACIA

Dal documento EPAR *Assessment Report* riferito al farmaco di Moderna si apprende quanto segue:

- La popolazione dello studio comprende soggetti di età pari o superiore a 18 anni, inclusi individui con malattia cronica sottostante ma stabile (ad es. diabete, malattia polmonare cronica, obesità) e soggetti anziani di età superiore a 65 anni con una percentuale sostanziale oltre 75 anni nota per avere un rischio aumentato di sviluppo di malattia grave, ospedalizzazione e morte a seguito di infezione da SARS-CoV-2.
- **Endpoint primari**
  - Dimostrare l'efficacia di mRNA-1273 per prevenire COVID-19.
  - Valutare la sicurezza e la reattogenicità di 2 iniezioni del vaccino mRNA-1273 somministrate a 28 giorni di distanza.
- **Endpoint secondari**
  - Valutare l'efficacia di mRNA-1273 per prevenire COVID-19 grave.
  - Valutare l'efficacia dell'mRNA-1273 nel prevenire l'infezione da SARS-CoV-2 o COVID-19 confermata sierologicamente indipendentemente dalla sintomatologia o dalla gravità. (nessun dato disponibile)
  - Valutare l'efficacia del vaccino (VE) rispetto a una definizione secondaria di COVID-19.
  - Valutare la VE per prevenire la morte causata da COVID-19.
  - Valutare l'efficacia di mRNA-1273 per prevenire COVID-19 dopo la prima dose di prodotto in sperimentazione (IP).
  - Valutare l'efficacia dell'mRNA-1273 nel prevenire COVID-19 in tutti i partecipanti allo studio, indipendentemente dall'evidenza di una precedente infezione da SARS-CoV-2.
  - Valutare l'efficacia dell'mRNA-1273 nella prevenzione dell'infezione asintomatica da SARS-CoV-2. (nessun dato disponibile)
- La valutazione dei probabili casi di COVID-19 è stata effettuata **in seguito alla segnalazione da parte dei partecipanti allo studio di almeno due segni / sintomi clinici sistemici o respiratori riconosciuti predittivi di COVID-19** (predefinito) e **successiva conferma di laboratorio dell'infezione di SARS-CoV- 2 in tamponi nasali o campioni di saliva mediante RT-PCR.**
- Lo studio di fase 3 ha una durata prevista di 25 mesi ed era programmato per essere cieco, ma con l'emendamento 6 del protocollo, il richiedente ha espresso l'intenzione di offrire lo smascheramento a tutti i partecipanti contemporaneamente al momento dell'autorizzazione per l'uso di emergenza negli Stati Uniti.  
Lo studio, pertanto, ha subito grandi cambiamenti. La versione del protocollo di studio attualmente disponibile è la Versione 6, datata 23 dicembre 2020, che descrive in dettaglio la modifica del processo di apertura del cieco dopo l'autorizzazione EUA negli Stati Uniti.
- È **probabile** che il vaccino protegga anche contro il COVID-19 grave, sebbene questi eventi fossero limitati nello studio e la definizione di COVID-19 grave avrebbe potuto essere più rigorosa da un punto di vista clinico.
- Al momento non è noto se il vaccino protegga dall'infezione asintomatica o dal suo impatto sulla trasmissione virale. La durata della protezione non è nota.

- È stato arruolato solo un piccolo numero di soggetti sieropositivi.
- Gli individui in terapia immunosoppressiva o immunomodificante o i pazienti immunodeficienti sono stati esclusi dallo studio cardine. Poiché alcuni di questi individui, a seconda del livello di immunosoppressione, potrebbero non sviluppare una risposta immunitaria appropriata dopo un regime a due dosi, potrebbero essere necessarie ulteriori dosi per ottenere una protezione adeguata.
- Non sono disponibili informazioni sulla neutralizzazione incrociata per valutare se il vaccino protegge da tutti i ceppi circolanti.

Tra le **Specific obligations** pianificate troviamo:

- Valutare i dati sulla sicurezza a lungo termine e la durata dell'efficacia del vaccino (VE) *Specific Obligations* pianificate
  - Sicurezza e immunogenicità del vaccino mRNA-1273 SARS-CoV-2 negli adulti immunocompromessi di età pari o superiore a 18 anni (entro marzo 2023)
  - Studio sulla sicurezza della sorveglianza attiva post-autorizzazione che utilizza dati secondari per monitorare la sicurezza nel mondo reale del vaccino mRNA-1273 nell'UE (31 dicembre 2023)
  - Studio in gravidanza (30 giugno 2024)
  - Studio del mondo reale per valutare l'efficacia dell'mRNA-1273 e l'efficacia a lungo termine negli Stati Uniti (30 giugno 2025)
    - ✗ Valutare l'efficacia nel mondo reale e l'efficacia a lungo termine dell'mRNA-1273
    - ✗ nella prevenzione della COVID-19 e della grave malattia da COVID-19.
    - ✗ Efficacia stratificata per età, sesso, razza / etnia, condizioni di comorbidità.
    - ✗ Efficacia di due dosi di vaccino nella prevenzione del COVID-19 tra i pazienti
    - ✗ immunocompromessi.
    - ✗ Verranno valutati, nella misura in cui è fattibile, individui e partecipanti con malattie autoimmuni e infiammatorie.
    - ✗ Considerando le attuali raccomandazioni del Comitato consultivo per la pratica dell'immunizzazione di non somministrare contemporaneamente altri vaccini per adulti (ad esempio il vaccino contro l'influenza stagionale) nei partecipanti, Moderna valuterà questo programma il più possibile.
    - ✗ Verrà valutata anche la durata di una o due dosi di COVID19 Vaccine Moderna contro COVID-19 e COVID-19 grave

Consultando l'RCP si apprende:

- Che i casi di COVID-19 sono stati confermati mediante reazione a catena della polimerasi a trascrizione inversa (RT-PCR) e da un Comitato di validazione clinica.
- Che per COVID-19 si intende malattia sintomatica che ha richiesto un risultato positivo al test RT-PCR e almeno 2 sintomi sistemici o 1 sintomo respiratorio. Casi con esordio a partire da 14 giorni dopo la somministrazione della 2a dose.
- Che sono stati osservati 30.351 soggetti in totale, per un periodo mediano di 92 giorni (range: 1-122), per l'insorgenza di COVID-19.

Dal documento EPAR *Assessment Report* riferito al farmaco di Pfizer BioNTech si apprende quanto segue:

- Lo studio C4591001 è lo studio cardine di fase 1/2/3 per la registrazione in corso, randomizzato, controllato con placebo. È stato avviato come studio di fase 1/2 negli adulti negli Stati Uniti, quindi è stato modificato per espandere lo studio a una pianificazione globale di studio di fase 2/3 per arruolare ~ 44.000 partecipanti per accumulare casi COVID-19 sufficienti per condurre una valutazione tempestiva dell'efficacia; modificato per includere adolescenti di età compresa tra 16 e 17 anni, poi modificato per includere adolescenti di età compresa tra 12 e 15 anni.
- **Endpoint primari**
  - Valutare l'efficacia dell'azione profilattica di BNT162b2 COVID-19 confermato che si verifica da 7 giorni dopo la seconda dose in partecipanti senza evidenza di infezione prima della vaccinazione
  - Valutare l'efficacia della profilassi di BNT162b2 contro COVID-19 confermato che si verifica da 7 giorni dopo la seconda dose in partecipanti con e senza evidenza di infezione prima della vaccinazione
- **Endpoint secondari**
  - Valutare l'efficacia dell'azione profilattica di BNT162b2 contro COVID-19 confermato che si verifica da 14 giorni dopo la seconda dose in partecipanti senza evidenza di infezione prima della vaccinazione
  - Valutare l'efficacia della profilassi BNT162b2 contro COVID-19 confermato che si verifica da 14 giorni dopo la seconda dose in partecipanti con e senza evidenza di infezione prima della vaccinazione
  - Valutare l'efficacia della profilassi BNT162b2 contro il COVID-19 grave confermato che si verifica da 7 giorni e da 14 giorni dopo la seconda dose in partecipanti senza evidenza di infezione prima della vaccinazione
  - Valutare l'efficacia della profilassi BNT162b2 contro il COVID-19 grave confermato che si verifica da 7 giorni e da 14 giorni dopo la seconda dose in partecipanti con e senza evidenza di infezione prima della vaccinazione
  - Descrivere l'efficacia della profilassi BNT162b2 contro COVID-19 confermato (secondo i sintomi definiti dal CDC) che si verifica da 7 giorni e da 14 giorni dopo la seconda dose nei partecipanti senza evidenza di infezione prima della vaccinazione
  - Descrivere l'efficacia del BNT162b2 profilattico contro COVID-19 confermato (secondo i sintomi definiti dal CDC) che si verifica da 7 giorni e da 14 giorni dopo la seconda dose in partecipanti con e senza evidenza di infezione prima della vaccinazione.
- Il vaccino protegge anche da COVID-19 grave, sebbene questi eventi fossero rari nello studio e non sia possibile trarre conclusioni statisticamente certe.
- Al momento non è noto se il vaccino protegga dall'infezione asintomatica o dal suo impatto sulla trasmissione virale.
- La durata della protezione non è nota.

Consultando l'RCP si apprende che:

- lo Studio 2 è uno studio multicentrico, multinazionale, randomizzato, controllato verso placebo, in cieco per l'osservatore, di fase 1/2/3 per la determinazione della dose, la selezione di un potenziale vaccino e la valutazione dell'efficacia, condotto su partecipanti di età pari o superiore a 12 anni.
- La randomizzazione è stata stratificata per fasce d'età: da 12 a 15 anni, da 16 a 55 anni, o da 56 anni in poi, con almeno il 40% dei partecipanti nella fascia d'età ≥56 anni.

- Dallo studio sono stati esclusi i soggetti immunocompromessi e quelli con pregressa diagnosi clinica o microbiologica di COVID-19. Sono stati inclusi i soggetti con malattia stabile preesistente (definita come malattia che non avesse richiesto una modifica sostanziale della terapia né il ricovero in ospedale a causa di un peggioramento della malattia nelle 6 settimane precedenti l'arruolamento), e quelli con infezione nota e stabile da virus dell'immunodeficienza umana (HIV), da virus dell'epatite C (HCV) o da virus dell'epatite B (HBV). Al momento dell'analisi dello Studio 2, le informazioni presentate si basavano sui partecipanti di età pari o superiore a 16 anni.
- Nella parte di fase 2/3, circa 44.000 partecipanti sono stati randomizzati in numero uguale a ricevere 2 dosi di vaccino a mRNA anti-COVID-19 oppure placebo, a distanza di 21 giorni. Nelle analisi di efficacia sono stati inclusi i partecipanti che avevano ricevuto la seconda vaccinazione a distanza di 19-42 giorni dalla prima. La maggior parte (93,1%) di coloro che avevano ricevuto il vaccino ha ricevuto la seconda dose da 19 giorni a 23 giorni dopo la dose 1. È previsto il follow-up dei partecipanti fino a 24 mesi dopo la dose 2, per valutare la sicurezza e l'efficacia contro COVID-19.
- La popolazione per l'analisi dell'endpoint primario di efficacia era composta da 36.621 partecipanti di età pari o superiore a 12 anni (18.242 nel gruppo trattato con vaccino a mRNA anti-COVID-19 e 18.379 nel gruppo trattato con placebo) **che non avevano presentato evidenza di infezione pregressa da SARS-CoV-2 fino ai 7 giorni successivi alla somministrazione della seconda dose.** Inoltre, 134 partecipanti erano di età compresa fra 16 e 17 anni (66 nel gruppo trattato con vaccino a mRNA anti-COVID-19 e 68 nel gruppo trattato con placebo), e 1.616 partecipanti erano di età  $\geq 75$  anni (804 nel gruppo trattato con vaccino a mRNA anti-COVID-19 e 812 nel gruppo trattato con placebo).
- Al momento dell'analisi di efficacia primaria, i partecipanti erano stati seguiti per **monitorare l'insorgenza di COVID-19 sintomatica** per 2.214 persone/anno in totale nel gruppo trattato con vaccino a mRNA anti-COVID-19, e per 2.222 persone/anno in totale nel gruppo trattato con placebo.
- I casi confermati sono stati stabiliti utilizzando la tecnica della reazione a catena della polimerasi inversa (*Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction*, RT PCR), e in base alla **presenza di almeno 1 sintomo compatibile con COVID-19**, ovvero febbre, tosse di nuova insorgenza o aumentata, respiro affannoso di nuova insorgenza o peggiorato, brividi, dolore muscolare di nuova insorgenza o aumentato, perdita del gusto o dell'olfatto di nuova insorgenza, mal di gola, diarrea o vomito.
- Nell'analisi sono stati compresi i partecipanti **senza evidenza** sierologica o virologica (entro i 7 giorni successivi alla somministrazione dell'ultima dose) di infezione pregressa da SARS-CoV-2.

## ALLEGATO 6: IMPORTANTI RISCHI IDENTIFICATI, IMPORTANTI RISCHI POTENZIALI, INFORMAZIONI MANCANTI COME DA DOCUMENTAZIONE EPAR

### RIPORTIAMO I PRINCIPALI DATI RIFERITI AL VACCINO COMIRNATY. [1]

#### ANAFILASSI: IMPORTANTE RISCHIO IDENTIFICATO

Nel Riassunto delle Caratteristiche di Prodotto di entrambi i farmaci si legge che l'ipersensibilità al principio attivo o ad uno qualsiasi degli eccipienti rappresenta una controindicazione alla vaccinazione.

Nei rispettivi documenti *Risk Management Plan* (RMP) il **rischio anafilassi per ipersensibilità al principio attivo o ad uno qualsiasi degli eccipienti** contenuti nel vaccino viene evidenziato come un **importante rischio identificato** e VAED e VAERD segnalato un **importante rischio potenziale**.

Nell'Assessment Report del vaccino Comirnaty [2] si evidenzia che nel prodotto finito sono inclusi due nuovi eccipienti (mai utilizzati in vaccini iniettabili): il lipide cationico ALC-0315 e il lipide PEGilato ALC-0159 dei quali sono fornite informazioni limitate, ma allo sviluppatore non sono richiesti studi mirati riguardo alla sicurezza.

Si legge:

*“Questa preoccupazione per la sicurezza sarà seguita attraverso le attività di farmacovigilanza di routine e negli studi di sicurezza pianificati e in corso e sarà riportata nei rapporti mensili di sintesi sulla sicurezza e nei PSUR (Periodic Safety Update Reports).”*

Alcuni esperti sospettano che le nanoparticelle lipidiche (LNP) che permettono al materiale genetico di penetrare all'interno delle cellule, essendo PEGilate – ovvero legate a un composto, il polietilenglicole (PEG) – possano indurre reazioni anafilattiche in individui con anticorpi PEG preesistenti. Janos Szebeni ha osservato un fenomeno causato da queste particelle che ha definito “complement activation–related pseudoallergy” (CARPA). Un gruppo di ricerca che nel 2014 aveva dovuto interrompere uno studio di fase III dopo che lo 0,6% circa delle 1600 persone che partecipavano allo studio aveva avuto reazioni anafilattiche. Il gruppo ha scoperto che ognuno di quelli che avevano avuto una anafilassi aveva un alto livello di IgG anti PEG e che altri che pure avevano IgG anti PEG elevate non avevano tuttavia reagito allo stesso modo.

Uno studio ungherese sugli anticorpi anti PEG rileva come “[...] le IgG e le IgM anti-PEG hanno dimostrato di essere responsabili della perdita di efficacia dovuta all'accelerazione della clearance del farmaco nel sangue (ABC) e delle reazioni di ipersensibilità (HSR) che comportano gravi sintomi allergici con anafilassi occasionalmente fatale.” [3]

Le risposte immunitarie specifiche verso queste sostanze, quindi, potrebbero ridurre l'efficacia dei vaccini [4]. Il fenomeno rimane oggetto di approfondimento.

Nel Regno Unito nel “Package leaflet” [5] viene indicato di confrontarsi con il proprio medico, farmacista o personale infermieristico nel caso in cui si avesse avuto in precedenza una grave reazione allergica a un vaccino, a un medicinale o anche a un alimento.

In un recente articolo, la rivista Science [6] rileva che Pfizer nei trial clinici avrebbe escluso partecipanti che avevano avuto una reazione grave ad altri vaccini. Il profilo di sicurezza di Comirnaty per tali individui, pertanto, non è noto a causa della loro esclusione dallo studio clinico fondamentale.

Dalle evidenze, il rischio che Comirnaty possa innescare anafilassi o gravi reazioni allergiche appare ben oltre la soglia osservata per altri vaccini. Tra gli individui che hanno subito la grave reazione avversa vi sono soggetti con una storia di allergie o reazioni allergiche a farmaci, cibi o punture di insetto [7].



## **VAED e VAERD: IMPORTANTE RISCHIO POTENZIALE**

Nel *Risk Management Plan* di entrambi i vaccini viene segnalato un **importante rischio potenziale** che non è riportato né nel Riassunto delle Caratteristiche di Prodotto né tantomeno nella Nota Informativa allegata al modulo di Consenso Informato: il rischio di **Vaccine-Associated Enhanced Disease (VAED)**, inclusa la **Vaccine-Associated Enhanced Respiratory Disease (VAERD)**".

Le malattie potenziate associate al vaccino (VAED) si verificano quando manifestazioni di infezioni cliniche modificate e/o più gravi colpiscono gli individui, precedentemente vaccinati, esposti all'infezione naturale (agente patogeno di tipo selvaggio) per lo stesso agente patogeno.

Si apprende dallo studio "*Informed consent disclosure to vaccine trial subjects of risk of COVID-19 vaccines worsening clinical disease*" [8] che il rischio di incorrere nel potenziamento della malattia non è né teorico, né inconfutabile.

*"Il potenziamento della malattia indotto dal vaccino è stato osservato anche con i virus della SARS e della MERS e con il coronavirus felino, che sono strettamente correlati al SARS-CoV-2".*

## **GRAVIDANZA E ALLATTAMENTO: RISCHI COLLEGATI ALLA MANCANZA DI DATI SULLA SICUREZZA**

Nel Riassunto delle Caratteristiche di Prodotto (RCP) troviamo le seguenti indicazioni:

### *"4.6 Fertilità, gravidanza e allattamento*

#### **Gravidanza**

*I dati relativi all'uso di Comirnaty in donne in gravidanza sono in numero limitato. Gli studi sugli animali non indicano effetti dannosi diretti o indiretti su gravidanza, sviluppo embrionale/fetale, parto o sviluppo post-natale (vedere paragrafo 5.3). La somministrazione di Comirnaty durante la gravidanza deve essere presa in considerazione solo se i potenziali benefici sono superiori ai potenziali rischi per la madre e per il feto.*

#### **Allattamento**

*Non è noto se Comirnaty sia escreto nel latte materno."*

Nel Piano per la gestione del rischio (RMP) si legge:

**"Il profilo di sicurezza del vaccino non è noto** nelle donne in gravidanza o in allattamento a causa della loro esclusione dallo studio clinico cardine.

Ci possono essere donne in gravidanza che scelgono di essere vaccinate nonostante la mancanza di dati sulla sicurezza. Sarà importante seguirle per gli esiti della gravidanza e del parto. **I tempi della vaccinazione in una donna in gravidanza e la conseguente risposta immunitaria possono avere impatti variabili favorevoli o sfavorevoli sull'embrione/feto."**

## **SOGGETTI IMMUNOCOMPROMESSI: RISCHI COLLEGATI ALLA MANCANZA DI DATI SULLA SICUREZZA**

Nel Riassunto delle Caratteristiche di Prodotto (RCP) vengono fornite le seguenti indicazioni:

*"Soggetti immunocompromessi: L'efficacia, la sicurezza e l'immunogenicità del vaccino non sono state valutate nei soggetti immunocompromessi, compresi quelli in terapia immunosoppressiva. L'efficacia di Comirnaty potrebbe essere inferiore nei soggetti immunocompromessi."*

Nel Piano per la gestione del rischio (RMP) si legge:

**"Il profilo di sicurezza del vaccino non è noto** negli individui immunocompromessi a causa della loro esclusione dallo studio clinico fondamentale. L'efficacia del farmaco può essere inferiore negli individui immunocompromessi, diminuendo così la loro protezione da COVID-19."

### **PAZIENTI FRAGILI CON COMORBILITÀ: RISCHI COLLEGATI ALLA MANCANZA DI DATI SULLA SICUREZZA**

(ad esempio, broncopneumopatia cronica ostruttiva – BPCO - diabete, malattie neurologiche croniche, disturbi cardiovascolari)

Nel Riassunto delle Caratteristiche di Prodotto troviamo le seguenti indicazioni:

*“5.1 Proprietà farmacodinamiche: ... Non sono state rilevate differenze cliniche significative in termini di efficacia complessiva del vaccino nei partecipanti a rischio di COVID-19 severa, compresi quelli con uno o più comorbilità suscettibili di aumentare il rischio di COVID-19 severa (ad es. asma, indice di massa corporea (IMC)  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>, malattia polmonare cronica, diabete mellito, ipertensione) ...*

*Inoltre, le analisi per sottogruppi dell'endpoint primario di efficacia hanno dimostrato stime puntuali di efficacia paragonabili fra sessi, gruppi razziali ed etnie, e fra partecipanti con comorbilità associate a un rischio elevato di COVID-19 severa.”*

Nel RMP si legge:

*“Ci sono informazioni limitate sulla sicurezza del vaccino in pazienti fragili con comorbilità che sono potenzialmente a più alto rischio di COVID-19 grave.”*

*Comirnaty, si legge, “è stato studiato in individui con malattie croniche stabili (ad esempio ipertensione, obesità), tuttavia non è stato studiato in individui fragili con gravi comorbilità che possono compromettere la funzione immunitaria”.*

E nel seguito:

*“I dati di sicurezza saranno raccolti in individui fragili a causa dell'età o di malattie debilitanti negli studi di sorveglianza attiva e attraverso la farmacovigilanza di routine.”*

### **PAZIENTI CON DISTURBI AUTOIMMUNI O INFIAMMATORI: RISCHI COLLEGATI ALLA MANCANZA DI DATI SULLA SICUREZZA**

Nel RMP si legge:

*“Ci sono informazioni limitate sulla sicurezza del vaccino in individui con disturbi autoimmuni o infiammatori e una preoccupazione teorica che il vaccino possa esacerbare la loro malattia di base.”*

Questa indicazione NON è riportata nel Riassunto delle Caratteristiche di Prodotto (RCP).

E nel seguito:

*“I dati sulla sicurezza saranno raccolti in individui con malattie autoimmuni o infiammatorie croniche, compresi quelli che potrebbero essere sotto immunosoppressori negli studi di sorveglianza attiva.”*

### **SICUREZZA A LUNGO TERMINE: RISCHI COLLEGATI ALLA MANCANZA DI DATI**

Nel RMP di Comirnaty si legge:

*“La sicurezza a lungo termine del vaccino m-RNA BNT162b2 è attualmente sconosciuta, tuttavia ulteriori dati sulla sicurezza sono in corso di raccolta nello studio C4591001 per un massimo di 2 anni dopo la somministrazione della seconda dose del vaccino m-RNA BNT162b2.”*

### **BIBLIOGRAFIA**

1 - I dati riferiti al vaccino Moderna si presentano molto simili a quelli del vaccino Pfizer, se non con ulteriori restrizioni, motivo per cui si rende superflua un'analisi dello stesso.

2 - [https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/comirnaty-epar-public-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/comirnaty-epar-public-assessment-report_en.pdf)

3 - <https://doi.org/10.1016/j.addr.2020.07.024>

4 - Gergely Tibor Kozma, Taro Shimizuc, Tatsuhiro Ishida, Janos Szebeni (2020). Anti-PEG antibodies: Properties, formation, testing and role in adverse immune reactions to PEGylated nano-biopharmaceuticals. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2020.07.024>

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X20301083>

Moreno, A., Pitoc, G., Ganson, N., Layzer, J., Hershfield, M., Tarantal, A. and Sullenger, B. (2019). Anti-PEG Antibodies Inhibit the Anticoagulant Activity of PEGylated Aptamers. *Cell Chemical Biology*, 26(5), pp.634-644.e3. [www.cell.com/cell-chemical-biology/pdfExtended/S2451-9456\(19\)30035-2](http://www.cell.com/cell-chemical-biology/pdfExtended/S2451-9456(19)30035-2)

Neun, B., Barenholz, Y., Szebeni, J. and Dobrovolskaia, M. (2018). Understanding the Role of Anti-PEG Antibodies in the Complement Activation by Doxil in Vitro. *Molecules*, 23(7), p.1700. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6100003/>

Zhang, P., Sun, F., Liu, S. and Jiang, S. (2016). Anti-PEG antibodies in the clinic: Current issues and beyond PEGylation. *Journal of Controlled Release*, 244, pp.184-193. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5747248/>

5 -

[https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment\\_data/file/943249/Information\\_for\\_UK\\_recipients.pdf](https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/943249/Information_for_UK_recipients.pdf)

6 - <https://www.sciencemag.org/news/2020/12/suspicious-grow-nanoparticles-pfizer-s-covid-19-vaccine-trigger-rare-allergic-reactions>

7 - [https://www.ansa.it/canale\\_saluteebenessere/notizie/medicina/2021/01/07/vaccinidc-21-reazioni-anafilattiche-su-1.9-milioni-dosi\\_b4e2cb9c-58f1-41b6-a0bd-666693db42a1.html](https://www.ansa.it/canale_saluteebenessere/notizie/medicina/2021/01/07/vaccinidc-21-reazioni-anafilattiche-su-1.9-milioni-dosi_b4e2cb9c-58f1-41b6-a0bd-666693db42a1.html)

8 - Timothy Cardozo, Ronald Veazey (2020). Informed consent disclosure to vaccine trial subjects of risk of COVID-19 vaccines worsening clinical disease. <https://doi.org/10.1111/ijcp.13795>

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ijcp.13795>

## ALLEGATO 7: LA DENGUE ED IL VACCINO DENGVAXIA: UNA STORIA CHE SI RIPETE?

Nel dicembre 2015 il presidente delle Filippine Benigno Aquino III e altri hanno negoziato un accordo con la casa farmaceutica Sanofi per l'acquisto di tre milioni di dosi di Dengvaxia, il primo vaccino approvato contro la Dengue. Il progetto era vaccinare un milione di alunni di nove anni con tre dosi di vaccino ciascuno, per proteggerli dalle conseguenze peggiori della malattia: shock, collasso degli organi interni e morte. Esistono quattro varietà del virus della dengue, tutte trasmesse dalle femmine delle zanzare Aedes, in particolare A. aegypti, che succhiano il sangue durante il giorno, quando le persone non sono protette dalle zanzariere.

Negli ultimi cinquant'anni questi virus, stretti parenti di quelli della febbre West Nile, della febbre gialla e di Zika, si sono diffusi a ondate nelle regioni tropicali e subtropicali del mondo, aumentando di 30 volte l'incidenza della Dengue e colpendo oltre 390 milioni di persone ogni anno.

Non tutti coloro che sono infettati da un virus della Dengue si ammalano: tre persone su quattro tra quelle punte dalle zanzare infette sono asintomatiche. Le altre possono soffrire sintomi appartenenti a uno di tre gruppi:

- una febbre simile a quella di molte altre malattie virali;
- la «febbre Dengue», che è accompagnata da mal di testa, dolore dietro agli occhi, dolori alle articolazioni e alle ossa e, in casi rari, emorragie interne;
- la versione grave della malattia con febbre emorragica da Dengue e sindrome da shock da Dengue.

La Dengue fa paura, e da decenni gli operatori sanitari nei paesi in via di sviluppo aspettano un vaccino. Ma quando l'internista Antonio Dans e la pediatra Leonila Dans, entrambi epidemiologi clinici al Manila College of Medicine dell'Università delle Filippine, hanno letto la notizia della campagna di vaccinazione di Aquino sul quotidiano «Philippine Star», la prima cosa che li ha colpiti è stato il costo. Con un prezzo di 3 miliardi di pesos (57,5 milioni di dollari) solo per la fornitura, la campagna di vaccinazione con Dengvaxia sarebbe costata più di tutto il programma nazionale di vaccini per il 2015.

Avrebbe raggiunto meno dell'1 per cento dei circa 105 milioni di residenti nel paese. E anche se si stimava che in media nelle Filippine ne morissero circa 750 persone all'anno, la dengue non rientrava neanche tra le prime dieci cause di mortalità. Tra le malattie infettive, polmonite e tubercolosi mietevano molte più vittime. Leggendo con attenzione una relazione provvisoria dei ricercatori di Sanofi Pasteur (il dipartimento di Sanofi dedicato ai vaccini) sulle sperimentazioni cliniche del Dengvaxia, Antonio e Leonida Dans hanno trovato altri motivi di preoccupazione.

Tra i bambini asiatici dai due ai cinque anni, quelli che avevano ricevuto il vaccino avevano una probabilità sette volte maggiore rispetto ai bambini non vaccinati di essere ricoverati per dengue grave nei tre anni dopo l'inoculazione. Un'analisi attenta dei dati ha rivelato che, sebbene in media il Dengvaxia fosse più sicuro nei bambini più grandi, era statisticamente impossibile escludere la possibilità che per alcuni bambini peggiorasse la situazione.

Nel marzo 2016 i due medici e altri professionisti del settore medico, hanno scritto all'allora ministro della salute Janette Garin, facendo notare che il vaccino poteva essere rischioso per alcuni bambini e che forse le Filippine non avevano abbastanza operatori sanitari qualificati per monitorare gli eventuali effetti nocivi su così tante persone. Un vaccino potenzialmente più sicuro era in via di sviluppo e probabilmente valeva la pena aspettare, sostenevano.

Lo stesso mese, però, lo stimato gruppo consultivo sui vaccini dell'Organizzazione mondiale della Sanità (OMS), che fornisce le linee guida sulle pratiche di vaccinazione ai paesi, ha affermato in un documento informativo su Dengvaxia che i ricoveri in ospedale di bambini inoculati, se osservati nell'arco di più anni, non erano statisticamente significativi. «Non sono stati identificati altri segnali di sicurezza in alcuna fascia d'età» al di sopra dei cinque anni, si leggeva. C'era una «possibilità teorica» che Dengvaxia potesse essere pericoloso per alcuni bambini, ed erano necessari ulteriori studi per evitare che la cosa potesse «compromettere la fiducia pubblica» nel vaccino.

Ma doveva «essere introdotto come parte del programma di vaccinazioni di routine nei contesti appropriati», che includevano regioni dove il 70 per cento e oltre della popolazione era già affetto dalla dengue, dove la vaccinazione dei preadolescenti poteva ridurre i ricoveri ospedalieri fino al 30 per cento su un periodo di trent'anni. In un successivo documento programmatico il gruppo affermava che il vaccino era sicuro per i bambini a partire dai nove anni, per i quali lo si raccomandava. A quanto pare le autorità filippine erano così convinte della sicurezza di Dengvaxia da non obbligare Sanofi Pasteur a presentare i risultati degli studi di farmacovigilanza.

L'inserimento di un nuovo prodotto farmaceutico nel programma sanitario nazionale di solito richiedeva dai tre ai cinque anni di tempo ma il programma di vaccinazione contro la dengue è stato avviato subito, nell'aprile 2016. Pochi giorni dopo veniva segnalato il primo decesso post-vaccinazione ...

I due medici hanno continuato per mesi a parlare con la stampa e hanno postato su Facebook un video in cui, sulla base di una contestatissima teoria risalente a decenni prima chiamata «potenziamento dipendente dall'anticorpo» (ADE, dall'inglese antibody-dependent enhancement), si avvertiva che nei bambini che non erano mai stati affetti da dengue in precedenza il vaccino poteva rendere più letale del solito un successivo contagio da dengue.

La risposta della scienza fu un avvertimento: i medici che avessero preso parte alla «disinformazione» su Dengvaxia sarebbero stati responsabili di ciascuna morte per dengue che si sarebbe potuta prevenire con il vaccino.

Le cose sono rimaste così fino al novembre 2017, quando Sanofi Pasteur ha pubblicato a sua volta un avvertimento: Dengvaxia non doveva essere somministrato agli individui che non erano mai stati contagiati dalla dengue. Un mese dopo l'OMS ha pubblicato nuove linee guida in cui raccomandava il vaccino solo a chi avesse «un precedente contagio di dengue documentato».

A dicembre le Filippine hanno fermato il programma di vaccinazione, mentre genitori e stampa reagivano con furia, con recriminazioni e altre segnalazioni di decessi di bambini. A quel punto erano già stati vaccinati più di 830.000 bambini in età scolare. La controversia non ha rallentato il lancio di Dengvaxia, che attualmente è approvato in più di 20 paesi.

Nell'ottobre 2018 la Food and Drug Administration statunitense ha annunciato che avrebbe accelerato la procedura di esame per la richiesta di Sanofi Pasteur per l'approvazione di Dengvaxia. Ciò significa che il vaccino potrebbe essere approvato negli Stati Uniti per l'uso in zone dove la dengue è endemica, come Portorico, prima che le Filippine abbiano completato l'inchiesta sulle morti dei bambini vaccinati e prima che Sanofi Pasteur abbia pubblicato la relazione finale sui sei anni di sperimentazione clinica.