

Vaccinations as essential in the strategy of prevention of infectious diseases and their complications – problems and prospects

Gliński Z., Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin

This review article is based on a literature survey and describes prospects and problems of vaccinology. In the past 100 years, vaccination has contributed immensely to public health by preventing a number of infectious diseases. Attenuated, inactivated, recombinant, virus-vectored or subunit vaccines are employed to stimulate the protective immune responses for prevention, amelioration or treatment of infectious diseases. The major goals of veterinary vaccines are to improve the health and welfare of companion animals, increase production of livestock in a cost-effective manner, and prevent animal-to-human transmission of zoonotic agents from both domestic animals and wildlife. Progress in biotechnology has also provided protective immunity through DNA vaccines. In recent years nanoparticle-based vaccines, including subunit vaccines involving synthetic and/or natural polymeric adjuvants and carriers, as well as those based on virus-like particles offer several key advantages to help overcome the barriers to effective vaccine development. Vaccinology in the era of genomics is taking advantage of new technologies to produce RNA vaccines and dendritic cells vaccines.

Keywords: vaccination, new generation vaccines, escape of immunity, herd immunity.

Oporność jest wytworem różnych elementów złożonej matrycy immunologicznej układającej się w zależności od równowagi pomiędzy patogenem, jako obcym (non self) dla organizmu, a gospodarzem (self). Człowiek może wpływać na ten złożony system, o bardzo precyzyjnych mechanizmach samoregulacyjnych, nadzorowany przez różne populacje komórek i mediatory. Celem tej ingerencji jest zmiana reaktywności układu immunologicznego bądź w kierunku nasilenia odporności (immunostymulacja), względnie jej osłabienia (immunosupresja). Tę możliwość sterowania wykorzystuje w praktyce wakcynologia. Odgrywa ona nadal decydującą rolę w profilaktyce chorób zakaźnych i dzięki niej zlikwidowano na świecie dwie groźne choroby zakaźne: u ludzi ospę prawdziwą (*variola vera*), a u bydła księgosusz (*pestis bovum*). Zaraźliwość księgosuszu można porównać z zaraźliwością ospy, a do momentu wprowadzenia skutecznych szczepień żadne metody eliminacji choroby w populacji wrażliwych zwierząt nie przynosiły efektów (1, 2). Godny uwagi jest fakt, że zarówno w medycynie, jak i weterynarii istnieją przekonujące dowody i argumenty za tym, że szczepionki są

Szczepienia jako niezbędny element zapobiegania chorobom zakaźnym i ich powikłaniom – problemy i perspektywy

Zdzisław Gliński

z Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie

najlepiej przebadanymi preparatami, a ich wprowadzenie jest jednym z największych osiągnięć współczesnej medycyny i weterynarii. Zaniechanie szczepień może prowadzić do ponownego pojawienia się wielu chorób zakaźnych, które dzięki nim udało się wyeliminować lub ograniczyć.

Algorytm postępowania w chorobach zakaźnych człowieka różni się w kilku elementach od obowiązującego lub zalecanego w chorobach zakaźnych zwierząt gospodarskich, szczególnie w masowej hodowli, zwłaszcza na terenach, na których choroba wystąpiła po raz pierwszy lub może powodować duże straty ekonomiczne (np. afrykański pomór świń, pryszczycza). Kluczową rolę w medycynie w algorytmie postępowania w chorobach zakaźnych zagrażających zdrowiu, a zwłaszcza życiu pacjenta, odgrywa szczepienie, a inne działania profilaktyczno-higieniczne wydają się odgrywać znacznie mniejszą rolę. Ostre restrykcje sanitarne obowiązują tylko w kilku chorobach zakaźnych człowieka, np. w pandemicznej grypie, ospie, chorobie Ebola i SARS. Natomiast w weterynarii istotne znaczenie odgrywa bioasekuracja jako zespół działań, których celem jest utrzymanie lub poprawa stanu zdrowia oraz zminimalizowanie ryzyka wprowadzenia i szerzenia się patogenów w populacji zwierząt. Programy bioasekuracji są dostosowane do określonych chorób zakaźnych zwierząt, z uwzględnieniem sytuacji epizootycznej (3). Najważniejszą rolę w zapewnieniu bezpieczeństwa biologicznego odgrywa więc postępowanie mające na celu przerwanie łańcucha epizootycznego, a więc likwidację lub ograniczenie źródła zakażenia i eliminację rezerwuaru zarazków, przerwanie możliwości transmisji chorób oraz zmniejszenie podatności na choroby zakaźne przez stymulowanie odporności przeciwzakaźnej, zwłaszcza nabytej odporności swoistej.

Wakcynologia pomimo poczynionych postępów nie rozwiązała jednak kilku kluczowych problemów o znaczeniu epidemiologicznym, a mianowicie: konstrukcji „idealnej szczepionki”, likwidacji unikania kontroli immunologicznej przez patogeny, zmiany progu odporności środowiskowej

(odporności stadnej), z uwzględnieniem różnych gatunków zwierząt i różnych patogenów.

Perspektywy wakcynologii

Dokonanie głębokiego przełomu w produkcji szczepionek przeznaczonych dla człowieka i zwierząt umożliwiły metody biologii molekularnej i immunogenomiki, nanotechnologie, techniki hybrydyzacji oraz bioinformatyka (4, 5), uzyskiwanie zwierząt transgenicznych oraz szczepionek pochodzenia roślinnego. Nowe szczepionki mają cechy bardzo zbliżone do „idealnej szczepionki” (6, 7). Idealną szczepionkę powinna cechować silna immunogenność, stymulowanie długotrwałej i silnej odporności, najlepiej na całe życie, stabilność w okresie ważności, możliwość stosowania w akcjach masowych, brak niepożądanych efektów, a ponadto powinna istnieć możliwość odróżnienia odporności poszczepiennej od indukowanej przez zakażenie. Powinna ona też pobudzać zarówno wytwarzanie przeciwciała, jak i silną odpowiedź komórkową, chronić przed różnymi odmianami patogenu, zapobiegać nosicielstwu oraz wywoływać minimalne skutki niepożądane. Jednak, nawet pomimo dysponowania taką szczepionką, nie zawsze uzyska się zamierzony efekt, ponieważ wynik szczepienia zależy nie tylko od specyfiki samej szczepionki, ale również od właściwości zarazka wywołującego chorobę oraz stanu zdrowia szczepionego organizmu (5, 8).

Nowe możliwości w produkcji szczepionek przyniosło wykorzystanie technik nanotechnologii. Głównym ich założeniem jest opracowanie efektywnego sposobu wytwarzania i wykorzystania struktur o znanych właściwościach fizykochemicznych i biologicznych, których rozmiary wynoszą od jednego do kilkuset nanometrów i mogą zostać wykorzystane jako nośniki antygenów. Konstrukcja takiej szczepionki opiera się na dwóch elementach: nanonośniku i substancji aktywnej immunologicznie, uwalnianej w miejscu docelowym na skutek działania różnych czynników zewnętrznych. Nanonośniki różnią się składem,

wielkością i właściwościami powierzchniowymi. Jako nanoosiłki wykorzystuje się liposomy, emulsje, polimeryczne nano-cząsteczki i tlenek grafenu (graphene oxide nanosheets). Nanoosiłki mają kształt mikrokuleczek, nanopateczek lub mikro-nanowypustek (9). Nonoskala, ułatwiając fagocytowanie tych cząsteczek, umożliwia efektywniejsze rozpoznanie i prezentację antygenów szczepionkowych. Cząsteczki o średnicy poniżej 10 nm są z łatwością fagocytowane przez makrofagi i komórki dendrytyczne. Nośniki stałe chronią antygeny białkowe szczepionek przed degradacją. Zmodyfikowana powierzchnia nanoosiłków przez dotarcie antygenów do receptorów w komórkach GALT, MALT i SALT pozwala stymulować odpowiedź immunologiczną (10). Tak skonstruowane szczepionki są stosowane doustnie, wziewnie (11) lub bezpośrednio na skórę. Tak zwany nanoplatek o wymiarach mniejszych od znaczka pocztowego wystarczy przyłożyć na chwilę do skóry pacjenta, co całkowicie eliminuje konieczność ukłucia igłą. Jego działanie opiera się na obecności tysięcy mikroaplikatorów, które wstrzykują szczepionkę bezpośrednio w skórę. Wystarczy jedna setna zwykłej dawki szczepionki wykorzystywanej przy konwencjonalnych zastrzykach, a uzyskuje się podobną reakcję odpornościową. Metoda ta jest skuteczniejsza od dotychczas znanych sposobów szczepienia i nie wymaga użycia dodatkowych substancji wzmacniających reakcję odpornościową (12).

Nanoszczepionki, w tym szczepionki pojednostkowe z syntetycznymi lub naturalnymi polimerowymi adiuwantami i nośnikami, mają liczne zalety: można stosować różne kombinacje antygenów, ukierunkowywać na wybrane komórki układu immunologicznego, uzyskiwać odporność krzyżową na różne antygeny, działają przy tym jako adiuwanty lub immunomodulatory. Umożliwiają ciągle uwalnianie się antygenów, wymagają więc tylko jednorazowego podania (13). Jako nośnik często jest wykorzystywany syntetyczny polimer syntetyczny – kwas polilakto-ko-glikolowy oraz nanorurki grafenowe. Nierozpuszczalne nanorurki nie ulegają biodegradacji, mają wielkość i kształt bakterii, są pozbawione właściwości immunogennych, cechują się małą toksycznością, są wykorzystywane jako nośniki różnorodnych antygenów i z łatwością wchodzi w kontakt z komórkami prezentującymi antygen (14). U ludzi tuberkulinę PPD *Mycobacterium tuberculosis* skoniugowaną z nośnikiem, jakim są rurki grafenowe, wykorzystuje się coraz powszechniej do szczepień przeciwgruźliczych. Szczepionka ta w iniekcji podskórnej indukuje produkcję IFN- γ i IL-12 na identycznym poziomie jak konwencjonalna szczepionka BCG. Wykorzystanie

liposomów jako nośników ma natomiast tę zaletę, że cząsteczki o średnicy ponad 2 nm silnie pobudzają produkcję IL-10, a o średnicy 500 nm wytwarzanie INF- γ przez splenocyty (15).

Coraz częściej stosowane są też rekombinowane szczepionki zawierające wyłącznie swoiste białka immunogenne ukierunkowane na indukowanie określonego rodzaju odporności. Po ustaleniu genu kodującego ekspresję białka indukującego odporność na zakażenie zostaje on sklonowany w systemie ekspresyjnym, jakim jest wirus, komórki Gram-ujemnych bakterii, drożdży lub komórki owadzie, co umożliwia wyprodukowanie szczepionki (16). Szczepionki oparte o nowe strategie biologii molekularnej wykorzystujące wirusy jako wektory genów kodujących immunogeny patogenów (np. wirusa wścieklizny lub księgosuszu) są w coraz większym zakresie wykorzystywane w wakcynologii weterynaryjnej. Wektorem są najczęściej wirusy z rodziny Poxviridae (17, 18, 19). Na przykład w szczepionce przeciwko PCV2 wykorzystuje się bakulowirus produkujący białko ochronne ORF2 (20). W szczepionce przeciwko grypie koni wykorzystano wirus ospy kanarków jako wektora do ekspresji genów hemaglutyniny H3N8 szczepów Newmarket i Kentucky wirusa grypy (21).

W szczepionkach pojednostkowych pochodzenia roślinnego (plant-derived vaccines) wykorzystano komórki roślin jako systemy ekspresyjne do produkcji białek immunogennych (22, 23). Uzyskano transgeniczny tytoń z peptydem PA toksyny *Bacillus anthracis*, pomidory i tytoń z białkiem immunogennym CoV wirusa SARS oraz na bazie genomów chloroplastowych sałatę z białkiem B toksyny (CtxB) *Vibrio cholerae*, tytoń z białkiem HEV wirusa zapalenia wątroby typu E. Transgeniczne pomidory, w których genom wbudowano fragmenty materiału genetycznego wirusa wścieklizny, produkują białko immunogenne tego zarazka. Ekspresja tego białka ma miejsce w owocach i liściach pomidora. Uzyskano też sałatę z ekspresją immunogennego białka wirusa polio. Tak uzyskane szczepionki podaje się razem z pokarmem (24). Produkcja tych szczepionek jest tania, ilość prawie że nieograniczona, antygeny szczepionkowe cechuje duża stabilność, a czas ważności szczepionki jest długi, zaś wirusy roślinne ewentualnie zanieczyszczające szczepionkę są niechorobotwórcze dla człowieka i zwierząt (25).

Nowe możliwości stworzyły techniki produkcji zwierząt transgenicznych syntetyzujących i wydalających, np. z mlekiem, białka odpornościowe stosowane w mleku tych zwierząt jako szczepionki lub źródło przeciwciał (26, 27). Podjęto też próby produkcji zwierząt użytkowych

odpornych na choroby zakaźne. Otrzymałno świnię transgeniczną odporną na zakaźne wirusowe zapalenie żołądka i jelit lub przyszcycę (28).

Rola komórek dendrytycznych w układzie immunologicznym polega na prezentowaniu antygenów limfocytom oraz pobudzaniu i regulacji nabytej odpowiedzi immunologicznej. Wykorzystano różne typy i sposoby aktywacji komórek dendrytycznych: mieloidalne komórki dendrytyczne różnicowane za pomocą GM-CSF i IL-4 lub IL-13, hematopoetyczne komórki progenitorowe CD34+ uzyskane drogą leukaferazy i różnicowane do komórek dendrytycznych *in vitro* za pomocą GM-CSF i TNF- α , komórki dendrytyczne z produktu leukaferazy przez wirowanie w gradiencie gęstości lub izolację na kulkach immunomagnetycznych (29). Do aktywacji stosowano m.in. połączenie z peptydami objętymi restrykcją MHC I i MHC II lub białkami drobnoustrojów oraz nowotworów, transfekcję wirusami kodującymi antygeny lub kwasy nukleinowe oraz egzosomy otrzymane z komórek dendrytycznych (30). Immunogenność komórek dendrytycznych po wprowadzeniu antygeny można wzmocnić hemocyaniną, IL-12, IL-15 lub chemokinami. Szczepionki z komórek dendrytycznych mogą być wprowadzane śródskórną, podskórną, dożylną lub bezpośrednio do węzłów chłonnych objętych procesem chorobowym. Opracowano szczepionki oparte na komórkach dendrytycznych dla wirusowego zapalenia wątroby typu C (31), opryszczki pospolitej, AIDS, grypy (32), kandydozy (33), a także przeciwko nowotworom (34). Trudno jednak przewidzieć, w jakim zakresie szczepionki z komórek dendrytycznych znajdą zastosowanie w weterynarii.

Ogromnym postępem w wakcynacji są szczepionki DNA. Metoda konstrukcji tych szczepionek polega na łączeniu (ligowaniu) kwasu nukleinowego kodującego immunogenne białko drobnoustroju z plazmidowym eukariotycznym wektorem ekspresyjnym (35). Ekspresja antygeny drobnoustroju ma miejsce w komórkach gospodarza pochłaniających plazmid. Szczepionka DNA jest silnym induktorem długotrwałej przeciwwirusowej, przeciwbakteryjnej i przeciwpasożytniczej odpowiedzi komórkowej i humoralnej (36, 37). Działanie szczepionek DNA wyjaśnia się albo mechanizmem bezpośredniej transfekcji komórek prezentujących antygen (APC) bądź transfekcją komórek somatycznych z następową ich fagocytozą przez komórki, które prezentują antygen (38). Ponieważ DNA jest bardzo stabilny i odporny na temperaturę, dystrybucja i przechowywanie szczepionek DNA jest mniej skomplikowana aniżeli innych szczepionek. Immunizacja oczyszczonym DNA umożliwia

prezentację antygeny w formie natywnej, ponieważ antygeny odpowiedzialne za immunogenność są syntetyzowane w taki sam sposób jak podczas naturalnego zakażenia.

W immunizacji zwierząt mogą być też wykorzystywane syntetyczne peptydy o strukturze epitopów antygenów protekcyjnych drobnoustrojów. Skonstruowano szczepionki oparte o syntetyczne peptydy wirusów pryszczycy i grypy (39). W konstruowaniu szczepionek nowe możliwości oferuje odwrócona wakcynologia (reverse vaccinology; 40, 41). Obejmuje ona szczepionki bazujące na sekwencjach genomów patogenów poznanych i zdeponowanych w Internecie, z których wyodrębniono geny dające ekspresję produktów wywołujących określony typ odpowiedzi immunologicznej (42). Wstępem do otrzymania szczepionki jest poznanie genomu patogenu, wyszukanie w nim otwartych ramek odczytu (ORF) i wyselekcjonowanie sygnałowych peptydów odpowiedzialnych za kodowanie białek wydzielniczych lub powierzchniowych. Po wybraniu odpowiednich genów i ich amplifikacji uzyskuje się białko rekombinowane w heterologicznym systemie ekspresji (najczęściej *Escherichia coli*) i sprawdza się szczepionkę w testach laboratoryjnych na zwierzętach. Badania z użyciem metod odwróconej wakcynologii zapoczątkowano nad serotypem B *Neisseria meningitidis*, dla której żadną ze znanych metod nie udało się wyprodukować szczepionki (43). W 2010 r. immunogenność i bezpieczeństwo prototypowej szczepionki oceniano u wolontariuszy (44). Podjęto również próby uzyskania szczepionek przeciwko *Streptococcus agalactiae*, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae* i *Escherichia coli* (45).

Unikanie kontroli immunologicznej przez patogeny

Patogeny mają sposoby uniknięcia destrukcyjnego działania mechanizmów swoistej odpowiedzi immunologicznej indukowanej szczepieniem. W tym celu wykorzystują jedną lub kilka strategii równocześnie. W konsekwencji mimo szczepienia mogą się rozwijać latentne, przewlekłe lub ciężkie postaci zakażenia. Te zjawiska mogą być następstwem braku rozpoznania przez układ immunologiczny gospodarza struktur powierzchniowych patogenu jako obce, a tym samym nie zostają włączone mechanizmy odpowiedzi immunologicznej indukowanej przez szczepienie. Patogen może ukrywać się przed działaniem mechanizmów odpowiedzi immunologicznej dzięki zmianie struktur powierzchniowych lub w miejscach niedostępnych dla działania efektorów odporności. Istnieje też możliwość zaburzenia przez patogen działania mechanizmów odpornościowych.

Efektom zmienności genetycznej jest pojawienie się nowych wariantów antygenowych patogenu, co powoduje, że już istniejące mechanizmy odpowiedzi immunologicznej nie działają na niego w sposób dostatecznie swoisty. Przykładem jest wirus grypy i kaliciwirus koci oraz *Escherichia coli*. Wirus grypy ulega ciągłej ewolucji w wyniku mutacji punktowych (antigenic drift) lub genetycznej reasortacji (antigenic shift), czego efektem jest możliwość powstania 16 podtypów hemaglutyniny (od H1 do H16) wirusa. Produkcja swoistych przeciwciał skierowanych przeciwko odpowiedniemu podtypowi wirusa zależy od hemaglutyniny H. Ta ewolucja wirusa grypy ma zasadnicze znaczenie dla występowania u ludzi corocznych sezonowych epidemii grypy, a od czasu do czasu pandemii (46).

Kaliciwirus koci (FCV) cechuje się dużą plastycznością genomu, co znajduje odzwierciedlenie w dużej zmienności właściwości antygenowych i chorobotwórczości różnych szczepów wirusa i w postaci klinicznych choroby: od zakażeń bezobjawowych i łagodnych postaci do zakażeń układowych często kończących się śmiercią. Przyczyną zmiany antygenowości szczepów FCV jest mutacja w 5' HVR regionie E epitopu kapsydu wirusa (47). Stąd też wiele szczepów FCV cechuje tylko częściowe pokrewieństwo antygenowe, co stwarza problem ich doboru do produkcji szczepionki w przypadku zakażeń antygenowo niepokrewnymi szczepami (48). W przypadku *Escherichia coli* różni się 171 antygenów somatycznych, około 80 antygenów powierzchniowych K i 53 rzęskowych H, co w rezultacie daje 171 typów antygenowych (49). Brak odporności krzyżowej powoduje, że zakażenie heterologicznym serotypem *E. coli* nie jest hamowane w szczepionym organizmie (50, 51).

Polisacharydy otoczki paciorkowców grupy B oraz *Haemophilus* spp. osłabiają immunogenność patogenu oraz hamują fagocytozę i działanie dopełniacza (52). Aktywację dopełniacza hamuje też kwas sialowy obecny w otoczce *Neisseria gonorrhoeae* (53).

Zmieniona antygenowo dodatkowa warstwa glikoproteinowa VlsE (variable major protein-like sequence, 35 kDa) skrywa białkowe antygeny powierzchni zewnętrznej (OspA, outer surface lipoprotein A), co umożliwia uniknięcie działania mechanizmów odporności *Borrelia burgdorferi* przed układem odpornościowym gospodarza (54). Borelie zmieniają antygenowość białek błony komórkowej przez selektywną aktywację puli przynajmniej 26 genów kodujących tzw. zmienne główne białka. Mutanty mogą mnożyć się niezagrażone aż do czasu wytworzenia przeciwciał. Lokus VlsE jest kodowany na plazmidzie lp28-1 (55). Drugim ważnym sposobem unikania przez

borelie mechanizmów odporności jest adherencja do macierzy pozakomórkowej oraz ochrona przed działaniem dopełniacza dzięki ekspresji białek powierzchniowych CRASP (complement regulator-acquiring surface proteins, 27,5 kDa i 20,7 kDa) wchodzących w bezpośrednią interakcję z rekonektyną (FHL-1) i czynnikiem H pełniącymi rolę regulatorową w aktywacji dopełniacza na drodze alternatywnej (56).

Białko M paciorkowców z grupy A hamuje konwertazy dopełniacza, zapobiegając jego aktywacji na drodze alternatywnej. Toksyny o właściwościach enzymatycznych, np. lecytynaza *Clostridium perfringens*, niszczą przeciwciała IgA na powierzchni błon śluzowych, a streptolizyna powodują destrukcję granulocytów obojętnochłonnych (57).

Unikanie wewnątrzkomórkowej lizy jest mechanizmem występującym u bakterii, wirusów i pasożytów. *Mycobacterium tuberculosis* unika strawienia wewnątrzkomórkowego, zaburzając tworzenie i funkcję fagosomu i fagolisosomu (58), podczas gdy *Listeria monocytogenes* osiąga ten efekt dzięki listeriolizynie O, która umożliwia pałeczce *Listeria* replikację w fagosomach makrofagów i uwolnienie się z fagosomu oraz przeniknięcie do cytoplazmy, gdzie znajduje warunki do wzrostu i podziału (59).

Hamowanie apoptozy komórek zakażonych przez niektóre wirusy jest podstawowym procesem odpowiedzialnym za ograniczenie rozprzestrzeniania zakażeń wirusowych w organizmie. W odróżnieniu od innych procesów niszczenia komórek podlega ścisłej kontroli i nie wywołuje odczynu zapalnego (60). Wirus może wpływać na mechanizm apoptozy w dowolnym momencie – zarówno na etapie indukcji przez kaskadę kaspaz, jak i egzekucji (cytochrom c). Istotną rolę odgrywa białko rdzenia wirusa, które wpływa na szlaki apoptotyczne, a także na ekspresję czynników transkrypcyjnych, takich jak NF-κB.

Wiele wirusów (HIV, *Herpes*) ma zdolność zaburzania odpowiedzi immunologicznej, syntetyzując białka podobne do IL-10 zaburzające syntezę przeciwciał i składników dopełniacza. Niektóre pokswirusy uwalniają rozpuszczalne cząsteczki homologiczne z receptorami dla IFN i TNF-α i blokujące przeciwwirusowe działanie cytokin. Białko A52R wirusa krowianki blokuje aktywację NF-κB Toll-podobnego receptora 3 (TLR3), które jest receptorem dla wirusowego RNA (61). Integracja genomu obserwowana wyłącznie u wirusów DNA i retrowirusów umożliwia wirusowi możliwość replikacji i rozprzestrzeniania się na inne komórki i chroni przed atakiem immunologicznym (62). Przykładem są endogenne retrowirusy świni (PERV), których genom zawiera sekwencje

kodujące w postaci genów: gag, pol, env oraz sekwencję LTR. Długie sekwencje powtórzone LTR umożliwiają integrowanie materiału genetycznego wirusa z genomem komórki gospodarza. Mają zdolność do zakażenia komórek somatycznych oraz integracji z ich genomem. Do tej pory zidentyfikowano 32 miejsca w genomie świni, do których włączają się PERV (63).

Wytworzenie biofilmu przez bakterie ze względu na jego złożoną strukturę oraz odmienne cechy fizjologiczne tworzących go drobnoustrojów tłumaczy po części ich wysoką oporność na działanie mechanizmów związanych z odpornością organizmu (64). Biofilm jest trójwymiarową kolonią bakterii zawartą w macierzy złożonej produktów rozpadu drobnoustrojów o charakterze polimerów, pozakomórkowego DNA, wielko-cząsteczkowych białek i polisacharydów. Setki bakteryjnych biofilmów kolonizują organizm zwierząt i człowieka. Biofilmy cechują się zwiększoną opornością na detergenty oraz antybiotyki i mechanizmy odporności (65). Szczepienia jedynie w niewielkim stopniu przyczyniają się do niszczenia patogenów tworzących biofilm przez dopełniacz, w procesie fagocytozy (66) i przez humoralne mechanizmy odporności (67). Bakteryjny biofilm hamuje penetrację leukocytów oraz ich produktów w głąb struktur biofilmu, co w dużym stopniu uniemożliwia fagocytozę drobnoustrojów i minimalizuje efekty wybuchu tlenowego (68).

Odporność zbiorowiskowa

Koncepcja odporności zbiorowiskowej sięga początku XIX w., kiedy okazało się, że w przypadku ospy prawdziwej ryzyko zachorowania osoby nieodpornionej zmniejsza się, jeśli w danej populacji zwiększy się odsetek osobników uodpornionych. Ta pośrednia ochrona wpływa na redukcję transmisji zakażenia (69). Szczepienie redukuje zakażenia i łagodzi kliniczne objawy choroby, a także wpływa na odporność całej populacji (70). Odporność środowiskowa (populacyjna, grupowa, stadna) odpowiada za skuteczność szczepień. Próg odporności środowiskowej zależy od stosunku liczby osobników szczepionych do nieszczepionych i uwzględnia rodzaj zarazków, gatunek oraz wiek szczepionych zwierząt, metody chowu oraz obecność i charakter wektorów zarazków. Dla większości chorób zakaźnych człowieka próg odporności środowiskowej wynosi 95%, z wyjątkiem zakażeń wywołanych przez *Haemophilus influenzae*, dla którego wartość ta jest znacznie niższa i wynosi 30–40%. Obniżenie proporcji osobników zaszczepionych w populacji może skutkować pojawieniem się ognisk epidemicznych. Z chwilą osiągnięcia progu odporności choroba stopniowo jest eliminowana

w populacji, aż do jej całkowitego usunięcia, co miało miejsce w przypadku ospy człowieka i księgosuszu na całym świecie oraz polio w Europie i USA.

Odporność stadna zmienia się na skutek wzrostu lub spadku odporności poszczególnych osobników tworzących populację, zmniejszania się liczby odpornych zwierząt na skutek śmierci lub przeznaczenia do konsumpcji oraz pojawiania się w populacji noworodków i młodzieży w pełni wrażliwej na zakażenie.

W populacji zwierząt zawsze pewien odsetek osobników słabo reaguje na szczepienie, zaś u części zwierząt szczepienie indukuje bardzo silną odporność. Rozkład działania ochronnego szczepionek w populacji przebiega według krzywej Gaussa. W chorobach, które szerzą się drogą łańcuchowo-kontaktową obecność 60–70% zwierząt odpornych w populacji wystarcza do zahamowania transmisji choroby. Natomiast w chorobach o dużej zakaźności, które szerzą się szybko wszystkimi drogami (np. pryszczycą), obecność w populacji nawet niewielkiego odsetka zwierząt wrażliwych na zakażenie umożliwia rozwój epidemii.

W dużych skupiskach zwierząt często dąży się do uzyskania względnie homogennej populacji pod względem odporności. Chodzi o to, ażeby wszystkie zwierzęta, które pozostają ze sobą w kontakcie, były odporne. Z tym problemem wiąże się bowiem bardzo ściśle zabezpieczenie przed pasażem patogenów przez zwierzęta. W przeciwnym wypadku zarazek może się namnażać i utrzymywać się w organizmie zwierząt nieodpornych lub o zmniejszonej odporności. Te nieodporne lub mniej odporne osobniki stanowią stałe zagrożenie dla zdrowia dla nowo wprowadzonych zwierząt, noworodków i młodzieży, a także dla zwierząt starszych, u których odporność słabnie wraz z upływem czasu.

Odporność stadna sama wywiera presję ewolucyjną, tak że w następstwie jej działania pojawiają się w efekcie dryftu antygenowego szczepy patogenów o właściwościach umożliwiających uniknięcie kontroli immunologicznej i rozprzestrzenienie się w zaszczepionej populacji (71).

Wakcynologia rozwija się dynamicznie dzięki nowym odkryciom w zakresie wielu dziedzin nauk, zwłaszcza biotechnologii i biologii molekularnej, immunotechnologii i immunoinformatyki. Najprawdopodobniej będzie ona też coraz częściej alternatywą w przypadku zakażeń wywołanych przez superbakterie. W tym celu w fazie badań jest wykorzystanie szczepionek podjednostkowych uzyskanych na drodze inżynierii genetycznej, które mają chronić przed zakażeniami powodowanymi przez bakterie lekooporne. Planuje się szczepienia grup podwyższonego ryzyka przeciwko najgroźniejszym lub najczęstszym

Automat biochemiczny MINDRAY BS-120



Automat hematologiczny 3-diff MINDRAY BC-2800vet



Najnowszy automat hematologiczny 5-diff MINDRAY BC-5000vet



(cytometria przepływową + laser)

STAMAR[®]

Autoryzowany
i wyłączny dystrybutor sprzętów
firmy **mindray**
do laboratorium weterynaryjnego

Tel.: 601 845 055 (Marek)
726 300 777 (Dominika)

zarazkom lekoopornym tymi szczepionkami. Prowadzone są badania nad wyprodukowaniem szczepionek chroniących równocześnie przed zakażeniem kilkoma lekoopornymi zarazkami (72).

Podsumowanie

Szczepienia są nadal stosowane powszechnie w weterynarii dla zabezpieczenia zwierząt przed chorobami zakaźnymi, pomimo że zwiększa się wymagania dotyczące ich efektywności i bezpieczeństwa. Zwierzęta szczepi się zarówno w celach profilaktycznych, jak leczniczych. Do lekarza weterynarii należy jednak ostateczna decyzja podjęcia szczepień, po uwzględnieniu odnośnych wskazań zawartych w obowiązujących ustawach i przepisach dotyczących profilaktyki i zwalczania chorób zakaźnych zwierząt. W coraz większym zakresie są też realizowane ogólnoeuropejskie programy zwalczania chorób zakaźnych zwierząt z uwzględnieniem określonych szczepionek (73). Wydaje się uzasadniony pogląd, że dopóki nie będzie możliwe otrzymanie na drodze inżynierii genetycznej zwierząt odpornych na najgroźniejsze choroby zakaźne i powszechne ich wprowadzenie do hodowli, optymalnym rozwiązaniem będą szczepienia ze względu na ich wyjątkowy, immunologiczny mechanizm działania. W przyszłości na pewno będą produkowane nowe generacje bardziej skutecznych i bezpieczniejszych szczepionek.

Piśmiennictwo

- Scott G.R.: Global eradication of rinderpest. *Annl. N.Y. Acad. Sci.* 2006, **848**, 293–298.
- Gliński Z., Kostro K.: Świat wolny od kieszonki. *Życie Wet.* 2013, **88**, 539–543.
- Ustawa z 20 lutego 2015 r. o zmianie ustawy o ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt. *Dz.U.* 2015 poz. 470.
- Sette A., Rappuoli R.: Reverse vaccinology: developing vaccines in the era of genomics. *Immunity* 2010, **33**, 530–541.
- Barret A.D.T.: Vaccinology in the twenty-first century. *Vaccines* <http://www.nature.com/articles/npjvaccines20169>.
- Rinaudo C.D., Telford J.L., Rappuoli R., Seib K.L.: Vaccinology in the genome era. *J. Clin. Invest.* 2009, **119**, 2515–2525.
- Kennedy R.B., Poland G.A.: The top five “game changers” in vaccinology: toward rational and directed vaccine development. *OMICS* 2011, **15**, 533–537.
- Germain R.N.: Vaccines and the future of human immunology. *Immunity* 2010, **33**, 441–450.
- Chadwick S., Kriegl C., Amiji M.: Nanotechnology solutions for mucosal immunization. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2010, **62**, 394–407.
- Peek L.J., Middaugh C.R., Berkland C.: Nanotechnology in vaccine delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2008, **60**, 915–928.
- Renukaradhya G.J., Narasimhan B., Mallapragada S.K.: Respiratory nonparticle-based vaccines and challenges associated with animal models and translation. *J. Control. Rel.* 2015, **219**, 622–631.
- Gregory A.E., Titball R., Williamson D.: Vaccine delivery using nanoparticles. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2013, **3**, 1–13.
- Kim M.G., Park J.Y., Shon Y., Kim G., Shim G., Oh Y.K.: Nanotechnology and vaccine development. *Asian J. Pharm. Sci.* 2014, **9**, 227–235.
- Scheinberg D.A., McDevitt M.R., Dao T., Mulvey J.J., Feinberg E., Alidori S.: Carbon nanotubes as vaccine scaffolds. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2013, **65**, 2016–2022.
- Gupta P.N., Vyas S.P.: Investigation of lectinized liposomes as M-cell targeted carrier-adjuvant for mucosal

- immunization. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 2011, **82**, 118–125.
- Els N.T., Meeusen T., Walker J., Peters A., Pastoret P.P., Jungers G.: Current status of veterinary vaccines. *Clin. Microbiol. Rev.* 2007, **20**, 489–510.
- Shams H.: Recent developments in veterinary vaccinology. *Vet. J.* 2005, **170**, 289–299.
- Jabbar A., Iqbal Z., Muhammed G., Khan M.N., Abbas R.Z., Sandhu Z.U.D., Lateef M.: The interplay of molecular biology and veterinary parasitology: a need of the time. *Int. J. Agri. Biol.* 2005, **7**, 845–853.
- Achrea L.C., Kaplan R.M., Faustino M.A.G.: Molecular biology in veterinary medicine: concepts and application. *Medicine Vet.* 2007, **1**, 71–80.
- Blanchard P., Mahe D., Cariolet R., Keranflech A., Baudouard M.A., Cordioli P., Albina E., Jestin A.: Protection of swine against post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) by porcine circovirus type 2 (PCV2) proteins. *Vaccine* 2003, **21**, 4565–4575.
- Minke J.M., Audonnet J.C., Fischer L.: Equine viral vaccines: the past, present and future. *Vet. Res.* 2004, **35**, 425–443.
- Rigano M.M., Walmsley A.M.: Expression systems and development in plant-made vaccines. *Immunol. Cell Biol.* 2005, **83**, 271–277.
- Lucka M., Kowalczyk T., Szemraj W., Sakowicz T.: Rośliny jako alternatywne źródło białek terapeutycznych. *Postępy Hig. Med. Dośw.* (online), 2015, **69**, 362–373.
- Malabadi R.B., Ganguly A., Silva J.A., Parashar A., Suresh M.R., Sunwoo H.: Overview of plant-derived vaccine antigens: dengue virus. *J. Pharm. Sci.* 2011, **14**, 400–413.
- WHO: Plant derived vaccines. http://www.who.int/biologicals/vaccines/plant_derived_vaccines/en/ 2015.
- Magnus P.K., Lali F.A.: Transgenic milk. *Vet. World* 2008, **1**, 319–320.
- Maksimenko O.G., Deykin A.V., Khodorovich Y.M., Georgiev P.G.: Use of transgenic animals in biotechnology: prospects and problems. *Acta Naturae* 2013, **5**, 33–46.
- Whitelaw C.B.A., Sang H.M.: Disease-resistant genetically modified animals. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 2005, **24**, 275–283.
- Podstawka U., Kopeć-Szłęk J.: Komórki dendrytyczne, ich właściwości i pozyskiwanie do zastosowania w immunoterapii nowotworów. *Post. Nauk Med.* 2008, **8**, 541–546.
- You C.X., Shi M., Liu Y., Cao M., Luo R., Hermonat P.L., AAV2/IL-12 gene delivery into dendritic cells (DC) enhances CTL stimulation above other IL-12 applications: evidence for IL-12 intracrine activity in DC. *Oncoimmunol.* 2012, **1**, 847–855.
- Zhou Y., Zhang Y., Yao Z., Moorman J.P., Jia Z.: Dendritic cell-based immunity and vaccination against hepatitis C virus infection. *Immunology* 2012, **136**, 385–396.
- Konduri V., Decker W.K., Halpert M.M., Gilbert B., Safdar A.: Modeling dendritic cell vaccination for influenza prophylaxis: potential applications for niche populations. *J. Infect. Dis.* 2013, **207**, 1764–1772.
- Kundu G., Noverr M.C.: Exposure to host or fungal PGE2 abrogates protection following immunization with Candida-pulsed dendritic cells. *Med. Mycol.* 2011, **49**, 380–410.
- O'Neill D., Adams S., Bhardwaj N.: Manipulating dendritic cell biology for the active immunotherapy of cancer. *Blood* 2004, **104**, 2235–2246.
- Khan K.H.: DNA vaccines: roles against disease. *Germs* 2013, **3**, 26–35.
- Kennedy N.J., Spithill T.W., Tennent J.: DNA vaccines in sheep: CTLA-4 mediated targeting and CpG motifs enhance immunogenicity in a DNA prime/protein boost strategy. *Vaccine* 2006, **24**, 970–979.
- Fowler V.L., Barnett P.V.: Progress in the development of DNA vaccines against foot-and-mouth disease. *Expert Rev. Vaccines* 2012, **11**, 481–493.
- Li L., Saade F., Petrovsky N.: The future of human DNA vaccines. *J. Biotechnol.* 2012, **162**, 171–182.
- Porta C., Kotecha A., Burman A., Jackson T., Ren J., Loureiro S., Jones I.M., Fry E.E., Stuart D.L., Charleston B.: Rational engineering of recombinant picornavirus capsids to produce safe, protective vaccine antigen. *PLoS Pathog.* 2013, **9**, e1003255. doi:10.1371/journal.ppat.1003255
- Rappuoli R., Aderem A.: A 2020 vision for vaccines against HIV, tuberculosis and malaria. *Nature* 2011, **473**, 463–468.
- Kanampalliar A.M., Rajkumar S., Girdhar A., Archana T.: Reverse vaccinology: basics and applications. *J. Vaccines Vaccin.* 2013, **4**, 194–201.
- Mora M., Veggi D., Santini L., Pizzza M., Rappuoli R.: Reverse vaccinology. *Drug Discov. Today* 2003, **15**, 459–464.
- Pizzza M., Scarlato V., Masignani V., Giuliani M.M., Aricò B., Comanducci M., Jennings G.T., Baldi L., Bartolini E., Capecchi B.: Identification of vaccine candidates against serogroup B meningococcus by whole-genome sequencing. *Science* 2000, **287**, 1816–1820.
- Sette A., Rappuoli R.: Reverse vaccinology: developing vaccines in the era of genomics. *Immunity* 2010, **33**, 530–541.
- Seib K.L., Zhao X., Rappuoli R.: Developing vaccines in the era of genomics: a decade of reverse vaccinology. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012, **18** (suppl. 5), 109–116.
- Treanor J.: Influenza vaccine-outmaneuvering antigenic shift and drift. *N. Engl. J. Med.* 2004, **350**, 218–220.
- Radford A.D., Gaskell R.M.: Dealing with a potential case of FCV-associated virulent systemic disease. *Vet. Rec.* 2011, **168**, 585–586.
- Ohe K., Sakai S., Takahasi T., Sunaga F., Murakami M., Kiuchi A., Fukuyama M., Furuhashi K., Hara M., Ishikawa Y., Taneno A.: Genogrouping of vaccine break down strains (VBS) of feline calicivirus in Japan. *Vet. Res. Commun.* 2007, **31**, 497–507.
- Stenutz R., Weintraub A., Widmalm G.: The structures of Escherichia coli – polysaccharide antigens. *FEMS Microbiol. Rev.* 2006, **30**, 382–403.
- Girard M., Steele D., Chaignat C., Kiemy M.: A review of vaccine research and development: human enteric infections. *Vaccine* 2006, **24**, 2732–2750.
- Varela N.P., Dick P., Wilson J.: Assessing the existing information on the efficacy of bovine vaccination against Escherichia coli O157:H7 – a systematic review and meta-analysis. *Zoon. Pub. Hlth* 2013, **60**, 253–268.
- Wessels M.R.: Biology of streptococcal capsular polysaccharides. *J. Appl. Microbiol.* 1997, **83**, 205–315.
- Schauer R., Srinivasan G.V., Wipfler D., Knip B., Schwartz-Albiez R.: O-acetylated sialic acids and their role in immune defense. *Adv. Exp. Biol. Med.* 2011, **705**, 525–548.
- Zhang J.R., Hardham J.M., Barbour A.G., Norris S.J.: Antigenic variation in Lyme disease *Borreliae* by promiscuous recombination of Vmp-like sequence cassettes. *Cell* 1997, **89**, 275–285.
- Kenedy M.R., Lenhart T.R., Akins D.R.: The role of *Borrelia burgdorferi* outer surface proteins. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2012, **66**, 1–19.
- Kraiczy P., Skerka C., Kirschnick M., Zipfel P.F., Brade V.: Immune evasion of *Borrelia burgdorferi*: insufficient killing of the pathogens by complement and antibody. *Int. J. Med. Microbiol.* 2002, **291**, suppl. 33, 141–146.
- Sierig G., Cywes C., Wessels M.R., Ashbaugh C.D.: Cytotoxic effects of streptolysin O and streptolysin S enhances the virulence of encapsulated group A *Streptococci*. *Infect. Immun.* 2003, **71**, 446–455.
- Raja A.: Immunology of tuberculosis. *Indian. J. Med. Res.* 2004, **120**, 213–232.
- Birmingham C.L., Canadien V., Kaniuk N.A., Steinberg B.E., Higgins D.E., Brumell J.H.: Listeriolysin O *Listeria monocytogenes* replication in macrophage vacuoles. *Nature* 2007, **451**, 350–354.
- Wyżewski Z., Gregorczyk K.P., Niemiński M.: Strategie hamowania apoptozy przez wirusy zapalenia wątroby typu E i C. *Medycyna Weter.* 2014, **70**, 323–325.
- Harte M.T., Haga I.R., Maloney G., Gray P., Reading P.C., Bartlett N.W., Smith G.L., Bowie A., O'Neill L.A.J.: The poxvirus protein A52R target Toll-like receptor signaling complexes to suppress host defense. *J. Exp. Med.* 2003, **197**, 343–351.
- Katzourakis A., Rambaut A., Pybus O.G.: The evolutionary dynamics of endogenous retroviruses. *Trends Microbiol.* 2005, **13**, 463–468.
- Sypniewski D., Machnik G., Mazurek U., Wilczok T., Smorąg Z., Jura J., Gajda B.: Distribution of porcine endogenous retroviruses (PERVs) DNA in organs of a domestic pig. *Annl. Transplant.* 2005, **10**, 46–51.
- Cogan N.G., Cortez R., Fauci L.: Modeling physiological resistance in bacterial biofilms. *Bull. Math. Biol.* 2005, **67**, 831–853.
- Parsek M.R., Singh P.K.: Bacterial biofilms: an emerging link to disease pathogenesis. *Ann. Rev. Microbiol.* 2003, **57**, 677–701.
- Domenech M., Ramos-Sevillano E., Garcia E., Moscoso M., Yuste J.: Biofilm formation avoids complement and phagocytosis of *Streptococcus pneumoniae*. *Infect. Immun.* 2013, **81**, 2606–2615.
- King L.B., Swiatlo E., Swiatlo A., McDaniel L.S.: Serum resistance and biofilm formation in clinical isolate of *Acinetobacter baumannii*. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2009, **55**, 414–421.
- Leid J.G.: Bacterial biofilms resist key host defenses. *Microbe* 2009, **4**, 66–70.
- Fine P., Eames K., Heymann D.L.: “Herd immunity”: a rough guide. *Clin. Infect. Dis.* 2011, **52**, 911–916.
- Roeder P.L., Taylor W.P.: Mass vaccination and herd immunity: cattle and buffalo. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 2007, **26**, 253–263.
- Stephens D.S.: Vaccines for the unvaccinated: protecting the herd. *J. Infect. Dis.* 2008, **197**, 643–645.
- Gliński Z., Kostro K.: Czy zwierzętom zagrażają superbakterie (NDM-1+)? *Magazyn Wet.* 2010, **19**, 1298–1300.
- Kita J., Rypula R., Czopowicz M.: Postęp w zwalczaniu zakażeń herpeswirusem bydła typu 1 (BHV-1) w wybranych krajach europejskich. *Życie Wet.* 2011, **86**, 202–205.