

medycyna weterynaryjna

ORGAN POLSKIEGO TOWARZYSTWA NAUK WETERYNARYJNYCH

Czasopismo poświęcone nauce i praktyce weterynaryjnej, założone w 1945 r. przez Wydział Weterynaryjny UMCS w Lublinie.

REDAKCJA

Redaktor naczelny: prof. dr hab. Edmund PROST. Członkowie Komitetu Redakcyjnego: prof. dr hab. Ryszard BADURA, prof. dr hab. Stanisław WOŁOSZYN, prof. dr hab. Elżbieta PEŁCZYŃSKA — sekretarz naukowy.

Sekretarz redakcji:
mgr Maria WITKIEWICZ-TOKARSKA

Sekretarz administracyjny:
dr Krzysztof SZKUCIK

RADA PROGRAMOWA

Prof. dr hab. Stanisław Cąkała, prof. dr hab. Zygmunt Cygan, prof. dr hab. Zygmunt Ewy, prof. dr hab. Tomasz Janowski, prof. dr hab. Teodor Juszkiewicz, prof. dr hab. Stefan Kossakowski, prof. dr hab. Zdzisław Larski, prof. dr hab. Władysław Lutyński, prof. dr hab. Józef Maleszewski, prof. dr hab. Michał Mazurkiewicz, prof. dr hab. Kazimierz Roslanowski, prof. dr hab. Zbigniew Samborski, prof. dr hab. Abdon Stryszak, prof. dr hab. Tadeusz Studziniński, prof. dr hab. Eustachy Szeligowski, prof. dr hab. Marcin Szulc, prof. dr hab. Krzysztof Swieżyński, prof. dr hab. Stefan Tarczyński, prof. dr hab. Marian Tischner, prof. dr hab. Jan Tropiło, prof. dr hab. Marian Truszczyński, prof. dr hab. Janusz Wawrzekiewicz.

CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

ZDZISŁAW LARSKI

Olsztyn

Nowoczesne szczepionki – wybrane zagadnienia

Szczepienia to historia wielkich osiągnięć w walce z chorobami zakaźnymi. Obecnie oddają one nieocenione usługi głównie w zwalczaniu zakażeń wirusowych, gdyż — w odróżnieniu od chorób bakteryjnych — brak wciąż dotąd, poza bardzo nielicznymi wyjątkami, skutecznych leków przeciwwirusowych, a więc główna rola przypada swoistej profilaktyce. Obecnie stosuje się u ludzi i zwierząt około 50 szczepionek (2).

W oddzielnym artykule (19) omówiono podział szczepionek według ich charakteru i zakresu powodowanego przez nie immunitetu; uzasadnione jest wprowadzenie terminu immunitet zamiast używanego dotąd, merytorycznie nieścisłego — w świetle poznanych faktów — określenia odporność swoista (21—25). Najbardziej istotny jest podział szczepionek na żywe, to jest zawierające zarazek żywy zmodyfikowany (atenuowany) i zabite czyli zawierające zarazek inaktywowany. Jedne i drugie wykazują zalety i wady przedstawione w tabelach 1 i 2.

Ocena wartości szczepionki mierzona tylko nasileniem odpowiedzi humoralnej, to jest poziomem przeciwciał, jest niewystarczająca. Jest ona bowiem wyrazem uruchomienia tylko wytwarzających je limfocytów B, natomiast decydującą rolę odgrywają limfocyty T, uważane za dyrygentów reakcji immunologicznej organizmu. Mogą one być supresorami, a więc hamować zbyt ener-

gicznie działające limfocyty B, albo ich pomocnikami, gdy te wykazują zbyt słabą aktywność.

Centralną rolę w zapoczątkowaniu odpowiedzi immunologicznej spełniają także makrofagi. Fagocytują one antygen i trawią go, pozostawiając jednak na błonie cytoplazmatycznej część jego nie zmienionego materiału, określoną jako superantygen, który prezentowany limfocytom stanowi dla nich silny bodziec immunogeny.

Zarówno limfocyty B, jak i T wiążą się z antygenem przy pomocy swoistych receptorów antygenowych. W odróżnieniu od limfocytów B, większość limfocytów T (z wyjątkiem limfocytów T_s) rozpoznaje i wiąże antygen tylko wtedy, gdy jest im on przedstawiony, zaprezentowany, w połączeniu z własnym antygenem MHC (major histocompatibility complex — główny zespół zgodności tkankowej) na powierzchni komórek gospodarza. MHC to zespół ściśle ze sobą połączonych genów gospodarza, pierwotnie uważany za decydujący o przeżywaniu przeszczepów narządowych; obecnie wiadomo, że umożliwia także rozpoznawanie antygenów czynników zakaźnych przez limfocyty T.

Limfocyty T dzieli się na podstawie spełnianych funkcji na cztery podstawowe rodzaje: limfocyty wspomagające — T_h (od ang. helper), limfocyty hamujące, supresorowe — T_s, limfocyty cytotoksyczne — T_c i lim-

Tab. 1. Zalety i wady szczepionek żywych zmodyfikowanych (48)

Zalety:

- zapewniają szybszą ochronę,
- powodują dłużej trwający immunitet,
- zwykle wymagane jest tylko jedno szczepienie,
- zbędne jest używanie adiuwantów,
- są tańsze,
- lepiej indukują immunitet komórkowy i powstawanie sekrecyjnych IgA,
- mogą pobudzać organizm do wytwarzania interferonu.

Wady:

- możliwość rewersji zarazka do postaci zjadliwej,
- mogą wykazywać zjadliwość dla zwierzęcia w stanie immunosupresji,
- mogą działać immunosupresyjnie,
- mogą powodować ronienie,
- mogą być zanieczyszczone innymi żywymi wirusami,
- wymagają ostrożnego obchodzenia się z nimi dla zachowania żywotności zarazka

Tab. 2. Zalety i wady szczepionek zabitych (48)

Zalety:

- brak rewersji zarazka do postaci zjadliwej,
- nie są zanieczyszczone innymi żywymi wirusami,
- mniejsze prawdopodobieństwo działania immunosupresyjnego,
- mniejsze prawdopodobieństwo wywoływania ronienia,
- są trwałe w czasie przechowywania i stosowania

Wady:

- większe prawdopodobieństwo wywoływania reakcji alergicznych,
- są słabiej immunogenne niż szczepionki żywe zmodyfikowane,
- wymagane jest dwukrotne wstępne szczepienie,
- wymagane jest dodanie adiuwantów dla uzyskania maksymalnej odpowiedzi immunologicznej,
- wymagana jest częstsza rewakcyjnacja,
- zbyt słabo indukują immunitet komórkowy i powstawanie sekrecyjnych IgA

focyty nadwrażliwości typu późnego — T_a (od ang. delayed-type hypersensitivity).

Limfocyty T_h i T_s , po rozpoznaniu obcego antygeny i związaniu się z nim, wydzielają czynniki działające regulacyjnie na aktywność limfocytów B i T, a limfocyty cytotoksyczne T_c niszczą komórki zakażone, a także nowotworowe wykazujące obcy antygen na swej powierzchni.

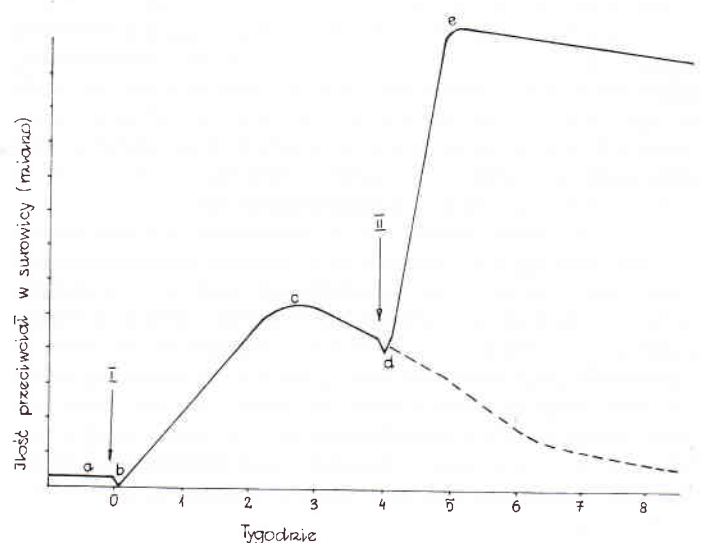
Limfocyty T uodpornionego osobnika, czyli uczulone, reagując ze swoistym dla nich antygenem wydzielają (swoista indukcja) wiele substancji zwanych limfokinami, a pośredniczących w zjawiskach immunitetu komórkowego. Działanie limfokin jest bardzo zróżnicowane, m.in.: niszczą zakażone komórki (cytotoksyczność), przyciągają leukocyty i makrofagi do miejsc objętych zakażeniem i tam je unieruchamiają, powodują, wzrost aktywności fagocytarnej makrofagów, co ułatwia im niszczenie zarazków lub zakażonych komórek. Tu trzeba podkreślić, że działanie limfokin jest już nieswoiste, to znaczy uruchamiają one reakcje obronne również przeciw antygenom innych zarazków (nieswoista faza wykonawcza).

W przebiegu omówionych reakcji elementów układu immunologicznego powstają także nieswoiste substancje — interleukiny biorące udział we wzajemnych oddziaływaniach między (łac. inter) leukocytami — stąd ich nazwa. Interleukina-1 wytwarzana jest przez aktywne makrofagi prezentujące antygen limfocytom, wpływa na różnicowanie się limfocytów B, powstawanie cytotoksycznych limfocytów T_c i pobudza wspomagające limfocyty T_h do produkcji interleukiny-2; ta ostatnia powoduje głównie wzrost proliferacji limfocytów T.

Dobra szczepionka powinna powodować sprawne współdziałanie wymienionych elementów układu immunologicznego i w efekcie rozwój skutecznego immunitetu. Ponieważ pobudzone przez antygen zarówno limfocyty B, jak i T są komórkami krótko żyjącymi (kilka dni) głównym warunkiem uznania dużej wartości szczepionki jest spowodowanie przez nią utrwalenia się pamięci immunologicznej (1). Aktywowane przez antygen zarazka limfocyty B uruchamiają immunitet humoralny (powstanie przeciwciał), a limfocyty T immunitet komórkowy. W tej „akcji obronnej” organizmu część limfocytów B i T nie bierze udziału, one właśnie stanowią komórki pamięci immunologicznej dla danego antygeny i tworzą niejako „rezerwę immunologiczną”.

Przy powtórny kontakt (szczepienie, zakażenie) organizmu z zarazkiem posiadającym ten sam antygen, który przy pierwszej ekspozycji spowodował wytworzenie komórek pamięci, komórki te ulegają bardzo szybkiemu namnożeniu. Mobilizacja tej „rezerwy immunologicznej” uruchamia prawie natychmiast skuteczne mechanizmy obrony. Tę wtórną odpowiedź immunologiczną, określoną też jako reakcja anamnestyczna (przypominająca), ang. booster, w odniesieniu do immunitetu humoralnego przedstawiono na ryc. 1. Różni się ona od pierwotnej odpowiedzi tym, że przeciwciała powstają szybciej, osiągają wyższy (nawet 10—15-krotnie) poziom, a następujący później ich spadek jest wolniejszy. To ostatnie wynika stąd, że we wtórnej odpowiedzi powstaje więcej immunoglobulin G (IgG) znacznie bardziej „długowiecznych” niż immunoglobuliny M (IgM), przeważające w pierwotnej odpowiedzi na antygen.

Przeciwciała zapobiegają zakażeniu komórki dzięki zubożeniu (neutralizacji) zakaźności wirusa, a także powodując lizę komórek już zakażonych, wykazujących

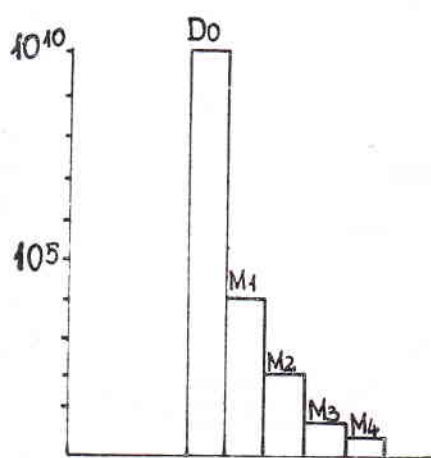


Ryc. 1. Reakcja anamnestyczna; a — poziom przeciwciał fizjologicznych (naturalnych), b i d — krótkie fazy negatywne wyrażające się spadkiem ilości przeciwciał w następstwie ich związania przez wprowadzony antygen, c — poziom przeciwciał po pierwszym (I) podaniu antygeny, e — poziom przeciwciał po drugim (II) podaniu tego samego antygeny; linia przerywana — poziom przeciwciał bez powtórzenia antygeny

na swej powierzchni antygeny wirusowe. Liza ta jest następstwem działania przeciwciał i dopełnacza lub wskutek cytotoksyczności uwarunkowanej przeciwciałami, ADCC (ang. antibody dependent cell-mediated cytotoxicity). Ta ostatnia wyraża się zniszczeniem komórek połączonych ze swoistym przeciwciałem przez specjalne komórki K (ang. killer — zabójca), ale też przez inne komórki mające odpowiedni receptor, np. monocyty, makrofagi, limfocyty B i niektóre limfocyty T. Neutralizujące przeciwciała reagują na ogół zaledwie z kilkoma determinantami (epitopami) antygenowymi na powierzchni zarazka. Antygen czynnika zakaźnego to kompleks składający się ze strukturalnych składników (antygenów cząstkowych) i te właśnie nazywa się determinantami antygenowymi, albo epitopami. Każdy z nich wywołuje może odrębną odpowiedź immunologiczną i wiązać powstałe przeciw niemu przeciwciała (także reagować z aktywowanymi przeciw sobie limfocytami T).

Przeciwciała nawet wytworzone w dużej ilości są praktycznie nieskuteczne, jeżeli istotne (ochronne) determinanty antygenowe zarazka podlegają znacznemu dryfowi antygenowemu. Wskutek tego pewne czynniki zakaźne unikają zubożenia przez przeciwciała powstałe w następstwie poprzedniego kontaktu (zakażenie lub szczepienie) z zarazkiem. Ten dryf antygenowy Legeżyński (27) trafnie i obrazowo określił jako „ucieczkę w odmianę antygenową”. Istotę zjawiska ilustruje ryc. 2, a w najbardziej wyrażonej postaci stwierdza się je przy grypie (grypie) ludzi. Przyczyną jest niejednorodność populacji cząstek wirusa, a nowe warianty pojawiają się w następstwie selekcji już poprzednio w tej populacji istniejących. Gdy pojawia się wariant mający dużą zdolność rozprzestrzeniania się i przewagę nad ostatnio dominującym, lecz już słabnącym wskutek narastania przeciw niemu immunitetu (swoistej odporności, a więc przeciwciał w populacji ludzkiej), to ten nowy staje się dominującym, jednak na krótko. Teraz bowiem następuje powszechne uodpornienie się populacji przeciw niemu, co z kolei prowadzi do jego stopniowej eliminacji i stwarza warunki do ujawnienia się następnego wariantu antygenowego. Zjawisko to stwierdzono też u wirusów pryszczycy i arbowirusów grupy B, flawiwirusów (53).

W immunitecie komórkowym główną funkcją efekto-



Ryc. 2. Wykres przedstawiający skład populacji wirusa; oprócz formy dominującej Do, znajdują się w niej mniejsze ilości mutantów (wariantów antygenowych) M₁, M₂ itd. (wg 20)

rowych limfocytów T (szczególnie T_c) jest likwidacja zakażenia oraz decydujący udział w procesach zdrowienia, w czym przeciwciała odgrywają tylko pomocniczą rolę; nie wiadomo, czy *in vivo* limfocyty T_c powodują bezpośrednią lizę komórek, czy przez uwalnianie limfokin aktywujących inne komórki do tej funkcji (1). Najważniejszą cechą immunitetu komórkowego, w porównaniu z humoralnym, jest szeroki zasięg odpowiedzi limfocytów T na wiele determinantów. Stanowi to ważny mechanizm przezwyciężenia zjawiska występowania wariantów antygenowych zarazka, w następstwie dryfu antygenowego i genetycznej zmienności populacji gospodarzy (1, 40).

Biorąc pod uwagę wyniki badań procesów zakaźnych i odpowiedzi immunologicznej na zarazek, Ada (1) sformułował cztery następujące ogólne wymagania wobec szczepionki:

— aktywacja komórek prezentujących antygen dla zainicjowania jego przetworzenia i produkcji interleukiny;

— aktywacja zarówno limfocytów T, jak i B dla powstania dużej liczby komórek pamięci;

— trwale utrzymywanie się antygeny w odpowiednich komórkach tkanki limfoidalnej, gdzie limfocyty B pamięci przekształcać się mogą w plazmocyty, tworzące przeciwciała;

— powstanie limfocytów T_h i T_c dla kilku determinantów antygenowych dla przezwyciężenia zmienności odpowiedzi immunologicznej populacji.

To ostatnie wymaga kilku słów wyjaśnienia. Otóż odpowiedź immunologiczna jest sterowana genetycznie, a więc może wykazywać różnice u poszczególnych szczepionych osobników, to znaczy, że mogą oni reagować na pewne, a nie na inne epitopy zarazka (2), dlatego szczepionka winna ich zawierać możliwie wiele.

Omówione dotąd mechanizmy ogólnoustrojowego immunitetu humoralnego i komórkowego nie chronią wcale lub tylko w nieznacznym stopniu organizm przed drobnoustrojami zakażającymi błony śluzowe przewodu pokarmowego, narządu oddechowego, rodowego i gruczołów mlekowych. W tych przypadkach przeciwciała i limfocyty T obecne w naczyniach krwionośnych tkanki podśluzowej mogą jedynie zapobiegać przenikaniu zarazka ze strony błony śluzowej, jednak nie są w stanie zapobiec zakażeniu jej samej. Rolę ochronną spełnia tam szczególna klasa przeciwciał, tj. sekrecyjnych immunoglobulin A (SIgA). Są one odporne na działanie enzymów proteolitycznych (co jest szczególnie istotne w przewodzie pokarmowym) i pokrywają błony śluzowe jak „ochronna farba”. Ten rodzaj immunitetu, określony jako zewnątrzwydzielniczy (sekrecyjny) lub śluzowy, rozwija się po użyciu żywych szczepionek i podaniu ich na błony śluzowe, np. donosowo lub doustnie. Prowadzi to także do uruchomienia lokalnego immunitetu komórkowego. Odmienności funkcjonalne limfocytów T na błonach śluzowych omawiają Dhar i Ogra (11); w odróżnieniu od oczywistej skuteczności przeciwciał sekrecyjnych, niewiele dotąd wiadomo o lokalnej roli ochronnej limfocytów T, chociaż pewne obserwacje wskazują na nią w niektórych wirusowych zakażeniach błon śluzowych.

Współczesne koncepcje produkcji szczepionek

Ostatnio uzyskano znaczne postępy w tym zakresie. Dzięki osiągnięciom biologii molekularnej i poznaniu funkcji poszczególnych komponentów zarazka stało się

możliwe użycie do sporządzania szczepionki tylko tych, które określa się jako „antygeny ochronne” to jest wywołujące immunitet; eliminuje to pozostały balast, który może działać alergicznie lub toksycznie. Metoda inżynierii genetycznej polega na tym, że po wprowadzeniu informacji genetycznej dla ściśle określonego antygeny dowolnego zarazka, np. do pałeczki *E. coli*, bakteria ta staje się producentem antygeny potrzebnego do sporządzania szczepionki.

Szczepionki z użyciem wirusa krowianki jako wektora antygenów innych zarazków to dalszy przykład możliwości wykorzystania inżynierii genetycznej do uzyskania preparatów o dobrych właściwościach immunogennych. Istotą metody jest wcielenie do genomu wirusa krowianki materiału genetycznego zarazka choroby, przeciw której sporządza się szczepionkę. Zachodzi rekombinacja, a powstały rekombinant — wirus krowianki, zawierający uodporniający obcy antygen, namnażają się w hodowlach komórek, stanowi materiał do produkcji szczepionki. W ten sposób uzyskano już skuteczne preparaty dające dobry immunitet przeciw zapaleniu B wątroby człowieka, malarii, opryszczce zwykłej (*herpes simplex*), wściekliznie, influenzy (grypie), zakażeniu wirusem Epsteina-Barr, *stomatitis vesicularis* u bydła, TGE u świń. Robione są też próby wykorzystania do tego samego celu genomu wirusa opryszczki zwykłej (*herpes simplex*) zamiast genomu wirusa krowianki. Sprawy te omawiają szczegółowo m.in. Quinnan (47), Bostock (7) i Mackett (31).

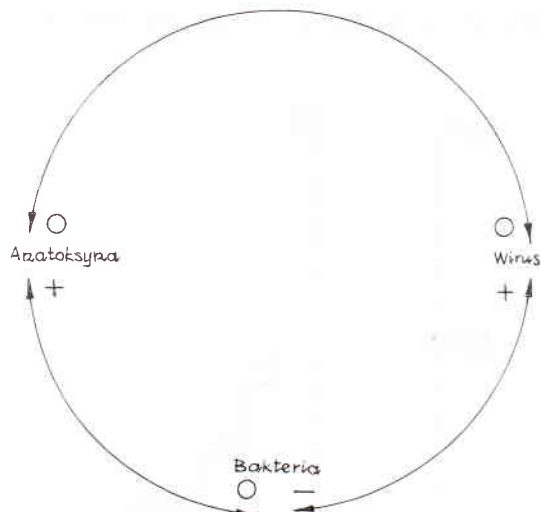
Szczepionki z antygeny otrzymanego syntetycznie to następne wielkie osiągnięcie nauki (8, 9, 29). Stało się to możliwe dzięki poznaniu sekwencji aminokwasów w antygenie naturalnie występującym w danym zarazku i opracowaniu metod syntezy łańcuchów polipetydowych. Pierwsze takie udane próby wykonano przy sporządzaniu szczepionki przeciw pryszczycy. Te metody pozwalają wyprodukować szczepionki przeciw chorobom, których zarazki nie namnażają się lub tylko słabo w hodowlach komórek *in vitro*.

Szczepionki antyidiotypowe to następna nowa koncepcja. Nazwano je tak, gdyż zawierają przeciwciała antyidiotypowe mogące naśladować antygen i wywołać uodpornienie. Istota tej metody w dużym uproszczeniu polega na tym, że wprowadzony do organizmu antygen np. wirusa (pierwszy antygen) powoduje powstanie swoistych przeciwciał, P-1 (przeciwciała pierwsze). Te, będąc białkami posiadają też własne antygeny, a te mieszczące się w części przeciwciała reagującej z antygenem zarazka określa się jako idiotypy. Powodują one po wprowadzeniu do organizmu powstanie przeciwciał antyidiotypowych, P-2 (przeciwciała drugie, przeciwciała dla przeciwciał), identycznych z antygenem pierwszym; mogą więc one imitować jego funkcje i zamiast niego być użyte jako szczepionka. Otrzymywanie szczepionki antyidiotypowej można by w sposób obrazowy porównać do sporządzania repliki metalowej płaskorzeźby (odpowiada ona antygenowi pierwszemu) przez wykonanie jej odcisku gipsowego (odpowiednik P-1), a następnie zrobienia na nim odlewu metalowego (P-2); ten ostatni odpowiada oryginałowi tak jak P-2 (przeciwciała antyidiotypowe) pierwszemu antygenowi. Perspektywy zastosowania szczepionek antyidiotypowych nie ograniczają się tylko do zapobiegania chorobom zakaźnym. Przewiduje się możliwość użycia tych preparatów w immunologii nowotworów (antyidiotypowe przeciwciała imitują antygeny nowotworowe), a także do hamowania reakcji autoimmunologicznych oraz odrzuca-

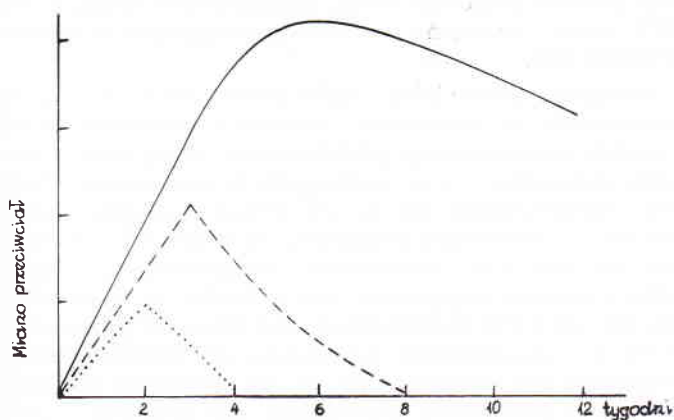
nia przeszczepów (14). Bardziej szczegółowe omówienie szczepionek antyidiotypowych zawiera kilka innych prac (5, 14, 16, 51), a w piśmiennictwie krajowym artykuł Rymkiewicz i Wysokińskiej (49).

Szczepionki typu ISCOM (immunostimulating complex = immunostymulujący kompleks) stanowią modyfikację szczepionek cząstkowych lub podjednostkowych. Próby ich sporządzania przez rozbijanie wirusów otoczkowych eterem i tweenem oraz innymi detergentami podejmowano już w latach 60-tych. Szczepionki te były całkowicie pozbawione właściwości zakaźnych, w następstwie zniszczenia kwasu nukleinowego, lecz niestety nie wykazywały także właściwości immunogennych; nie dały też efektu próby wcielenia tak otrzymanych antygenów do liposomów oraz dodatek różnych adiuwantów. Prace takie podejmowano też w 1972 r. w Polsce przy sporządzaniu szczepionki przeciw chorobie Newcastle (26). Obecnie wiadomo, że stosowane wtedy metody były zbyt drastyczne, co powodowało rozbijanie antygenów na zbyt małe fragmenty, a do wywołania odpowiedzi immunologicznej antygen musi być bardziej upostaciowany, swą strukturą maksymalnie przypominając układ w zarazku. Warunki te spełniają szczepionki ISCOM opracowane przez Morein i wsp. (41, 42), zawierające ponadto odpowiedni adiuwant. Szczepionki te sporządzono już z różnych wirusów, komórek i pasożytów, a aktywność immunogenna tych preparatów jest co najmniej 10 razy większa niż samych antygenów. Lövgren (30) wskazuje na możliwość wzmocnienia tą metodą także słabo immunogennych, nisko molekularnych antygenów, a dotyczy to zarówno humoralnej, jak i komórkowej odpowiedzi immunologicznej. Bardziej szczegółowo szczepionki typu ISCOM omówili w piśmiennictwie krajowym Gliński i Buczek (13).

Istotne znaczenie przy immunizacji przeciw kilku chorobom szczepionkami skojarzonymi (złożonymi) ma rodzaj wchodzących w ich skład antygenów. Przedstawiony na ryc. 3 schemat Hennessena (wg 6) podaje wzajemny ich wpływ. Anatoksyny i antygeny wirusowe nie przeszkadzają sobie wzajemnie; bakterie wzmagają antygenowe właściwości wirusów, co jest prawdopodobnie spowodowane ich adsorpcją na powierzchni bakterii;



Ryc. 3. Schemat Hennessena (wg 6) ilustrujący wzajemny wpływ antygenów w szczepionce złożonej (skojarzonej); O — brak działania, + — działanie wspierające, — (minus) — działanie osłabiające aktywność uodporniającą antygeny wskazanego strzałką



Ryc. 4. Miano przeciwciał u bydła po immunizacji szczepionką prod. Fort Dodge (USA), zawierającą 3 szczepy *Campylobacter*, 5 serotypów leptospir i kompletny adiuwant Freund (emulsja wodno-olejowa z wyciągiem z prątków) — linia ciągła; te same szczepy z adiuwantem $Al(OH)_3$ — linia przerywana; bez adiuwantu — linia kropkowana

antygeny bakterii tracą wskutek obecności wirusów w szczepionce, być może w następstwie maskowania przez nie antygenowych determinant bakteryjnych; bakterie wzmagają immunogenność anatoksyn, natomiast w odwrotnym kierunku brak jakiegokolwiek wpływu. Wymagać to może niekiedy przy produkcji takich szczepionek uwzględnienia odpowiednich proporcji ich komponentów.

Jak już wspomniano, szczepionki zabite wykazują nabyte właściwości immunizujące dopiero przy wprowadzeniu do nich odpowiednich adiuwantów, to jest substancji bardzo różnego charakteru (np. wodorotlenku glinu, cholesterolu, lanoliny w oleju, tapioki, saponin, komórek bakteryjnych lub ich wyciągów), stymulujących odpowiedź immunologiczną. Szczegółowy ich przegląd podaje m.in. Jacotot (15), a mechanizmy działania omawia White (52). Skuteczność adiuwantu zależy nie tylko od jego rodzaju, ale również od rodzaju antygeny i tylko odpowiednie, dobrane doświadczalnie układy wykazują dobre działanie. Wpływ rodzaju adiuwantu na nasilenie odpowiedzi immunologicznej i czas jej utrzymania się ilustruje przykładowo ryc. 4,

Szczepionki delecyjne (znaczone)

Stosowanie szczepionek może utrudniać likwidację choroby opartą na wykrywaniu i eliminacji osobników zakażonych bezobjawowo. Brak było bowiem dotąd metod umożliwiających odróżnienie dodatniej reakcji serologicznej powstałej po szczepieniu i wskutek zakażenia. Starsi lekarze wet. pamiętają dobrze okres, w którym w trakcie zwalczania brucelozы bydła przez eliminację zwierząt uznanych za zakażone na podstawie dodatniego wyniku badania serologicznego, wprowadzono równocześnie w ograniczonym zasięgu uodpornienie bydła przeciw brucelozie atenuowaną szczepionką S_{19} , powodującą pojawienie się swoistych przeciwciał. Trudności należytego i trwałego oznakowania zwierząt, brak dyscypliny hodowlanej i związane z tym niekontrolowane przemieszczanie zwierząt spowodowało poważne zamieszanie, gdyż nie można było na podstawie rutynowych badań, wykonywanych wtedy w WZHW, rozstrzygnąć, czy dodatni wynik jest następstwem zakażenia naturalnego, czy użycia szczepionki S_{19} . Podejmo-

wano badania mające na celu różnicowanie tych wyników przy użyciu kombinacji różnych testów serologicznych, lecz próby te nie dawały wystarczających podstaw do ich rutynowego zastosowania.

Obecnie rysują się możliwości sporządzania szczepionek, które dają odpowiedź serologiczną inną niż zakażenie. Dzięki wykorzystaniu osiągnięć inżynierii genetycznej udało się to na razie w odniesieniu do szczepionek przeciw chorobie Aujeszkiego wywoływanej przez herpeswirus, a należy się spodziewać, że możliwe to będzie także przy innych. Istotą metody jest usunięcie (delecja) z wirusa, przeznaczonego do sporządzania szczepionki, genu odpowiedzialnego za powstawanie antygeny nie mającego znaczenia dla wywoływania immunitetu ochronnego. Organizm szczepiony tym zmodyfikowanym (niekompletnym) szczepem uodporni się, lecz nie wytworzy oczywiście przeciwciał dla brakującego antygeny. Tym samym inny będzie zestaw przeciwciał po naturalnym zakażeniu antygenowo pełnym zarazkiem, a inny po zastosowaniu tej znaczonej szczepionki, co można łatwo wykazać dodatkowym badaniem serologicznym przy użyciu do odczynu usuniętego ze szczepionki antygeny; dodatnia reakcja przeciwciał badanej surowicy świadczy, że powstały one wskutek zakażenia, ujemna — że są następstwem szczepienia (3). Bardzo szczegółowo istotę i metodykę sporządzania szczepionek znaczonych omówili Oirschot i wsp. (44), a w piśmiennictwie krajowym Pejsak (45).

Odróżnienie reakcji serologicznej na szczepienie i zakażenie umożliwić może także użycie omówionych już szczepionek typu ISCOM, jeżeli ich skład ogranicza się do antygenów otoczki. Taka szczepionka wywołuje odpowiedź immunologiczną tylko na te antygeny, co odróżnia ją od powstającej po zakażeniu, powodującym pojawienie się przeciwciał dla wszystkich antygenów wirusa. Ostatnio sporządzono taką szczepionkę przeciw herpeswirusowemu zapaleniu nosa i tchawicy oraz otrętwi (IBR-IPV) bydła (38, 39).

Niezależne od szczepionki przyczyny jej nieskuteczności

Okres potrzebny do rozwoju czynnego immunitetu po szczepieniu wynosi zwykle 1—2 tygodni, a niekiedy i więcej, toteż zachorowania zwierząt w krótkim czasie po szczepieniu mogą być spowodowane tym, że wykonano je w okresie inkubacji (a więc u osobnika już zakażonego, ale jeszcze zdrowego) lub gdy szczepione zwierzęta przebywają w zakażonym środowisku albo zostają do niego wprowadzone.

Pomijając te oczywiste powody braku efektu szczepienia stwierdza się, że nawet po wykonaniu go bardzo dobrą szczepionką i we właściwym czasie może nie dojść do rozwoju należytego immunitetu wskutek niedostatecznej sprawności immunologicznej organizmu. Upośledzać ją może wiele czynników omówionych gdzie indziej bardziej szczegółowo (20, 22), m.in. wiek gospodarza (starość), immunosupresja spowodowana przez czynniki biologiczne (wirusy, bakterie, grzyby, pasożyty), fizyczne i chemiczne (np. leki immunosupresyjne), wrodzone i nabyte defekty immunologiczne, chemiczne skażenie środowiska, niedobory żywieniowe i stan odżywienia (10).

Niekiedy jednak nawet przy pełnej sprawności immunologicznej organizmu dobra szczepionka może nie powodować uodpornienia. Ma to miejsce w przypadku szczepienia młodych osobników przeciw określonej cho-

robie w okresie, gdy mają jeszcze we krwi biernie otrzymane od matki przeciwciała dla tej właśnie choroby. Ten bierny immunitet humoralny utrzymujący się od kilku tygodni do nawet kilku miesięcy powoduje, że w tym okresie następuje częściowe lub całkowite unieczynnienie przez przeciwciała antygeny wprowadzonego w szczepionce.

Dobra sprawność immunologiczna nie ma również praktycznego znaczenia dla ochrony organizmu przed wirusami wykazującymi zjawisko dużej zmienności wskutek omówionego już dryfu antygenowego — powstałe przeciwciała nie chronią przeciw stale pojawiającym się nowym wariantom wirusa. Stąd ciągle niepowodzenie przy sporządzaniu szczepionek przeciw influenzy (grypie), mimo, że powodują one powstawanie dużej ilości przeciwciał.

Następnym zjawiskiem mogącym powodować brak wartości ochronnej, mimo użycia dobrej szczepionki u sprawnego immunologicznie osobnika, jest „pierwotny grzech immunologiczny”, stwierdzony najpierw u wirusów influenzy (grypy) A (12), a następnie u niektórych paramyksowirusów, toga-, flawi- i enterowirusów (53). Zjawisko to wyraża się tym, że osobnik po pierwszym zetknięciu się (zakażenie, szczepienie) z danym serotypem, czyli odmianą antygenową wirusa występującego w kilku serotypach, zostaje niejako immunologicznie napiętnowany tym pierwszym kontaktem. Wskutek tego „pierwotnego grzechu immunologicznego”, po następnym zakażeniu lub szczepieniu dowolnym innym serotypem tego wirusa, organizm wytwarza przeciwciała dla odmiany antygenowej z pierwszego kontaktu. Ma to istotne konsekwencje praktyczne i stanowi drugą przyczynę niepowodzeń w produkcji szczepionek przeciw grypie. Nie wyjaśniono dotąd istoty tego zjawiska, które przewyciężyć można jedynie używając dużych dawek antygeny (szczepionki), co jest jednak w masowej profilaktyce grypy kosztowne, a ponadto powodować może skutki toksyczne (53).

Uboeczne następstwa szczepień

Wymienione poprzednio wymagania stawiane nowoczesnym szczepionkom uwzględniały wyłącznie aspekt immunologiczny, bez zwracania uwagi na możliwość powstania niekorzystnych dla zdrowia reakcji ubocznych. A przecież prawie każda czynna immunizacja może je wywołać u szczególnie dysponowanego osobnika, zwłaszcza przy stosowaniu żywych szczepionek; omawia to w odniesieniu do kilkunastu jednostek chorobowych Tizard (50). Ocenia się, że u ludzi takie niepożądane następstwa mogą wyrażać się u bardzo małego odsetka (jeden przypadek na milion osobników szczepionych) nawet zejściem śmiertelnym (2); jest to jednak znakomicie kompensowane przez dobrodziejstwa masowych szczepień zapobiegających rozprzestrzenianiu się choroby, przy której zachorowalność i śmiertelność mogłaby być znacznie wyższa. Po szczepieniu przeciw pryszczycy stwierdzono u bydła w wielu krajach reakcje alergiczne typu wczesnego, a w przypadku rewakcytacji szczepionką BHK (sporządzaną z wirusa namnożonego w hodowlach komórek nerki noworodków chomika — „baby hamster kidney”) dodatkowo alergię typu późnego — jest to reakcja na obcogatunkową tkankę (37).

Stosowanie żywych szczepionek u ciężarnych matek stwarzać może pewne, czasem nawet duże, niebezpieczeństwo dla ich płodów. Znane są takie komplikacje

na przykład po szczepieniu ludzi przeciw ospie, zwierząt przeciw pomorowi świń, księgosuszowi bydła, IBR/IPV bydła. Omówiono to bardziej szczegółowo w innym artykule (17).

Następne potencjalne niebezpieczeństwo szczepień ochronnych to możliwość powstania autoprzeciwciał wskutek molekularnego podobieństwa antygenów własnych organizmu i wprowadzonych w szczepionce. Przy całej nieskończoności, jak by się wydawać mogło, różnorodności i odrębności antygenów w przyrodzie, stwierdza się istnienie „sobowtórów antygenowych”. Takie pokrewieństwo antygenowe nieraz bardzo od siebie różniących się form biologicznych jest wyrazem posiadania przez nie identycznych lub podobnych determinantów antygenowych. Stwierdzono to na przykład między: *Rickettsia prowazekii*, wywołującą dur plamisty; i jednym z serotypów pałeczki odmieńca (*Proteus*); krętkiem bladym (kiły) i wyciągiem serca wołowego; wirusem mononukleozy i krwinkami barana; pałeczką *Brucella abortus* i *Yersinia enterocolitica* serotypu O9 (powoduje to trudność interpretacji serologicznego badania w kierunku bruceiozy); grzybem *Candida* i *Salmonella cholerae suis*; wirusami odry człowieka, nosówki psów i księgosuszu bydła; paciorkowcami i mięśniem sercowym oraz tkanką łączną człowieka. Takie podobieństwo sekwencji aminokwasów wielu wirusów oraz innych drobnoustrojów chorobotwórczych i normalnych białek gospodarza określa się jako molekularną mimikrę, a z prac omówionych przez Lentza (28) wynika, że 3,5% badanych surowic dla 11 różnych wirusów reagowało z normalnymi tkankami. Istnieje więc potencjalne niebezpieczeństwo rozwoju choroby autoimmunologicznej na tym tle (uszkodzenia tkanek gospodarza przez własne przeciwciała) po szczepieniu. Interesujące są w związku z tym wyniki niedawnych badań Martinezy i wsp. (32) wskazujące na podobieństwo antygenowe glikoprotein wirusa HIV (choroby AIDS) i receptorów na limfocytach T człowieka. Prowadzi to do zniszczenia tych komórek przez własne przeciwciała, a w dalszej konsekwencji do autoimmunosupresji, niezależnie od bezpośredniego działania wirusa na limfocyty T. Ponieważ istotą choroby AIDS jest właśnie zniszczenie tych komórek prowadzące do upośledzenia immunitetu komórkowego, problematyczna, w świetle tych badań, wydaje się skuteczność przyszłych szczepionek w zapobieganiu AIDS, natomiast rysuje się ewentualna przydatność lecznicza preparatów modyfikujących odpowiedź immunologiczną.

Pozornie paradoksalne wydawać się mogą dane wskazujące na ujemny wpływ szczepienia ochronnego na późniejsze zakażenie zjadliwym wirusem. Stwierdzono to zjawisko w odniesieniu do koronawirusowego zapalenia otrzewnej kotów, odry i zakażenia wirusem oddechowym syncytialnym (RS) u dzieci. Wyjaśniono, że w tych zakażeniach przeciwciała nie tylko nie hamują zakaźności wirusa, ale ją zwiększają. To zjawisko — ADE (antibody dependent enhancement — zwiększenie zależne od przeciwciał) tłumaczy się tym, że wirusy wymienionych chorób zakażają komórki łącząc się ze specjalnymi receptorami wiążącymi kompleksy wirus-przeciwciała (46). U kotów immunizowanych żywymi szczepionkami atenuowanymi, późniejsze zakażenie rozwija się szybciej, a choroba ma cięższy przebieg niż u nieszczepionych. Niektórzy tłumaczą to też możliwością uszkodzenia narządów przez kompleksy immunologiczne lub reakcją alergiczną. Podobnie u niektórych dzieci szczepionych przeciw RS, późniejszy kontakt ze zjadli-

wym wirusem wyraża się znacznym zwiększeniem nasilenia zmian patologicznych, w porównaniu z dziećmi nieszczepionymi. Dane wskazujące na możliwość wzmożenia, w następstwie ADE, zaostrzenia przebiegu dengi (wirusowej choroby występującej w krajach tropikalnych i subtropikalnych, przenoszonej przez komary) u ludzi uprzednio przeciw niej szczepionych, spowodowały zatrzymanie produkcji takiej szczepionki przez WHO (43); podobnie możliwość, że ADE odgrywać może negatywną rolę w patogenezie zakażenia wirusem HIV (choroby AIDS) wzbudziła ostatnio niepokój dotyczący prac nad szczepionką przeciw tej chorobie — niektórzy badacze wzywają do ich przerwania.

Na marginesie omawiania ubocznych następstw szczepień należy wspomnieć o pewnych stwierdzonych, nieoczekiwanych, towarzyszących im korzystnych zjawiskach. Zebrane obserwacje wskazują, że niektóre szczepionki oprócz indukowania swoistego immunitetu powodują stan krótkotrwałej, antygenowo nieswoistej obronności organizmu przeciw różnym chorobom zakaźnym. Powstaje on szybko, w ciągu kilku godzin, a utrzymuje się krótko, zwykle tylko kilka dni do kilku tygodni. Dane wielu autorów, zebrane przez Mayra (34) wskazują na takie działania niektórych szczepionek, zarówno wirusowych, jak i bakteryjnych. Odgrywają tu rolę następujące zjawiska (34, 36): konkurencja zarazków i antybioza, wzmożenie fagocytozy, pobudzenie humoralnych czynników rezystencji (np. dopełniacza, properdyny, bakteriocydyn, inhibitorów), pobudzenie enzymów lizosomalnych, aktywacja limfatycznego układu komórkowego, szczególnie limfocytów T, pobudzenie samoistnej cytotoxyczności wobec zakażonych komórek przez komórki jednojądrzaste, indukowanie produkcji interferonu. Bardziej szczegółowe omówienie tych spraw znaleźć można też w piśmiennictwie krajowym (18, 20).

Epizootiologiczne następstwa szczepień

W dotychczasowych rozważaniach brano pod uwagę zalety szczepionki głównie pod kątem uzyskania należytego immunitetu i zmniejszenia do minimum ryzyka szczepień. Takie stanowisko nie uwzględnia jednak ich epizootiologicznych i epidemiologicznych skutków. Ideałem byłoby szczepienie zapobiegające nie tylko zachorowaniu, ale też zakażeniu i nosicielstwu wirusa, lecz to tylko rzadko się osiąga.

Sprawa stosowania odpowiednich szczepionek przeciw-wirusowych, jako narzędzia nie tylko doraźnego zmniejszenia strat, ale też jednej z metod długofalowego zwalczania chorób, jest zagadnieniem weterynaryjnym, ale i ekonomicznym (stosuje się metody, które są oczywiście wykluczone w stosunku do populacji ludzkiej). Bardzo cenne są rozważania Mayra i wsp. (33, 35) o zależności między charakterem choroby zakaźnej (w sensie epizootiologicznym) a rodzajem profilaktyki swoistej. Mayr (33) uwzględniając zarówno teoretyczne przesłanki, jak i dane doświadczalne i obserwacje terenowe, przedstawia koncepcje dotyczące zasad postępowania profilaktycznego, przede wszystkim wyboru szczepionek żywych lub inaktywowanych. Na przykład stosowanie żywych szczepionek prowadzi do kontrolowanego i bezpiecznego „życia z zarazkiem”, to znaczy śmiertelność i zachorowalność spadają znacznie, a zjadliwe szczepy terenowe są stopniowo wypierane. Jednakże nie eliminuje to całkowicie zakażenia, lecz tylko przesuwają je na inny tor, ponieważ hamuje rozwój choroby, epizootia

przechodzi w podprogową, permanentną enzootię, która stanowi stałe zagrożenie dla populacji, a uniemożliwia likwidację zarazy. Obszerne omówienie w języku polskim koncepcji Mayra zawiera inne opracowanie (17). Również Blaha (4) rozważa znaczenie epizootiologicznego charakteru chorób dla ich immunoprofilaktyki i zwalczania. Być może stały postęp w wytwarzaniu nowych rodzajów szczepionek pozwoli bardziej skutecznie stosować je także jako narzędzie likwidacji niektórych chorób zakaźnych.

Piśmiennictwo

1. Ada G. L.: Lancet 335, 523, 1990.
2. Ada G. L.: Seminars in Virology 1, 3, 1991.
3. Anon.: Interstest Aujeszky — an ELISA to detect antibodies to glycoprotein (gI) of Aujeszky's disease virus. Intervet, Boxmeer 1988.
4. Blaha T.: Mh. Vet.-Med. 45, 483, 1990.
5. Bona C., Moran T.: Ann. Inst. Pasteur — Immunol. 136, 229, 1985.
6. Bonin O.: Prakt. Arzt 4, 1, 1966.
7. Bostock C. J.: Vet. Microbiol. 23, 55, 1990.
8. Brown F.: Brit. Med. Bull. 41, 53, 1985.
9. Brown F.: Seminars Virol. 1, 67, 1991.
10. Chandra R. K.: Lancet 1, 688, 1983.
11. Dhar R., Ogra P. L.: Brit. Med. Bull. 41, 28, 1985.
12. Fazekas de St. Groth S., Webster R. G.: J. Exp. Med. 124, 331, 1966.
13. Gliński Z., Buczek J.: Medycyna Wet. 48, 10, 1990.
14. Hiernaux J. R.: Infest. Immun. 56, 1407, 1988.
15. Jacotot H.: Rev. Immunol. 26, 112, 1972.
16. Kennedy R. C., Attanasio R.: Seminars Virol. 1, 57, 1990.
17. Larski Z.: Medycyna Wet. 34, 41, 1978.
18. Larski Z.: Medycyna Wet. 38, 16, 1982.
19. Larski Z.: Medycyna Wet. 38, 197, 1982.
20. Larski Z.: Wirusologia weterynaryjna. PWRiL, Warszawa, 1982.
21. Larski Z.: Immunologia Pol. 12, 123, 1987.
22. Larski Z.: Medycyna Wet. 44, 579, 1988.
23. Larski Z.: Mat. Nauk. V Symp. Wirusologicznego. Puławy 1989, s. 148.
24. Larski Z.: Życie Wet. 65, 1, 1990.
25. Larski Z.: Biul. Nauk. ART Olsztyn, w druku.
26. Larski Z., Wiśniewski J.: Medycyna Wet. 28, 645, 1972.
27. Legeżyński S.: Zmienność wirusów zwierzęcych. w: Biologia wirusów. zesz. VII PAN, Warszawa 1956.
28. Lentz T. L.: J. Gen. Virol. 71, 751, 1990.
29. Liebermann H.: Mh. Vet.-Med. 42, 341, 1987.
30. Lövgren K.: Construction and potential of ISCOM as immunogen. Sveriges Lantbruksuniversitet, Uppsala 1987.
31. Mackett M.: Seminars Virol. 1, 39, 1990.
32. Martinez A. C., Marcos M. A. R., De La Hera A., Marquez C., Alonso J. M., Toribio M. L., Coutinho A.: Lancet I, 454, 1988.
33. Mayr A.: Zbl. Bakt. I Orig. 235, 276, 1987.
34. Mayr A.: Münch. med. Wschr. 120, 239, 1978.
35. Mayr A., Eckerskorn W.: Tierärztl. Umschau 29, 415, 1985.
36. Mayr A., Raettig H., Stieckl H., Alexander M.: Fortschr. Med. 97, 1159 i 1263, 1979.
37. Mayr A., Ringeisen J., Baljer G., Bibrack B., Wallner J., Zimmer H.: Zbl. Vet. Med. 16B, 487, 1969.
38. Merza M., Belak S., Morein B.: J. Vet. Med. 35, 695, 1988.
39. Merza M., Tobor S., Kucsera L., Bogner G., Morein B.: J. Vet. Med. 38, 306, 1991.
40. Mitchell D. M., McMichael A. J., Lamb J. R.: Brit. Med. Bull. 41, 80, 1985.
41. Morein B., Fossum C., Lövgren K., Höglund S.: Seminars Virol. 1, 49, 1990.
42. Morein B., Sundquist B., Höglund S., Dalsgaard K., Osterhaus A.: Nature 308, 57, 1984.
43. Morens D. M., Halstead S. B.: J. gen. Virol. 71, 2909, 1990.
44. Oirschot J. T., Gielkens A. L. J., Moorman R. J. M., Berns A. J. M.: Vet. Microbiol. 23, 85, 1990.
45. Pejsak Z.: Medycyna Wet. 46, 129, 1990.
46. Porterfield J. S., Cardoso M. J.: Host range and tissue tropism — antibody-dependent mechanisms. w: Concepts in viral pathogenesis, red. A. L. Notkins, M. B. A. Oldstone. Springer-Verlag, New York 1984.
47. Quinnan G. V.: Vaccinia viruses as vectors for vaccine antigens. Elsevier, New York 1985.
48. Roth J. A.: Vet. Med. 86, 496, 1991.
49. Rymkiewicz D., Wysokińska T.: Przegl. Epidem. 44, 337, 1990.
50. Tizard I.: J. Am. vet. med. Ass. 196, 1851, 1990.
51. Uytendaele F. G., Bunschoten H., Weijer K., Osterhaus A. D.: Immunolog. Rev. 93, 93, 1986.
52. White R. G.: Immunogenicity. North-Holland Publ. Comp. Amsterdam 1972.
53. White D. O., Fenner F.: Medical Virology. Academic Press, Orlando 1986.