

Magiczna pałeczka

RENATA GODLEWSKA

Zakład Genetyki Bakterii
Uniwersytet Warszawski
renatag@biol.uw.edu.pl

ELŻBIETA KATARZYNA JAGUSZTYN-KRYNICKA

Zakład Genetyki Bakterii
Uniwersytet Warszawski
Komitet Mikrobiologii PAN
kjkryn@biol.uw.edu.pl

Wyrafinowane modyfikacje genetyczne zmieniają groźne dotąd komórki *Salmonella* w skarb współczesnej biologii molekularnej – szczepionkę nowej generacji skierowaną przeciwko różnym gatunkom bakterii

Pomimo olbrzymiego postępu immunologii, mikrobiologii i biologii molekularnej choroby zakaźne nadal stanowią istotny problem medyczny i weterynaryjny. Spożycie mięsa drobiowego zakażonego bakteriami *Campylobacter* i *Salmonella* jest najczęstszą przyczyną stanów zapalnych jelit u człowieka. Opisano aż 19 gatunków rodzaju *Campylobacter*. Ludzkie infekcje wywoływane są głównie przez *C. jejuni* i *C. coli*. Dotąd nie doceniano roli tego zarazka w zakażeniach przewodu pokarmowego człowieka, głównie z powodu braku odpowiednich metod diagnostycznych. Obecnie w USA *C. jejuni* izolowany jest od pacjentów z objawami stanów zapalnych jelit 3 do 4 razy częściej niż *Salmonella* czy *Shigella*! Niestety w Polsce nie są prowadzone tego typu badania.

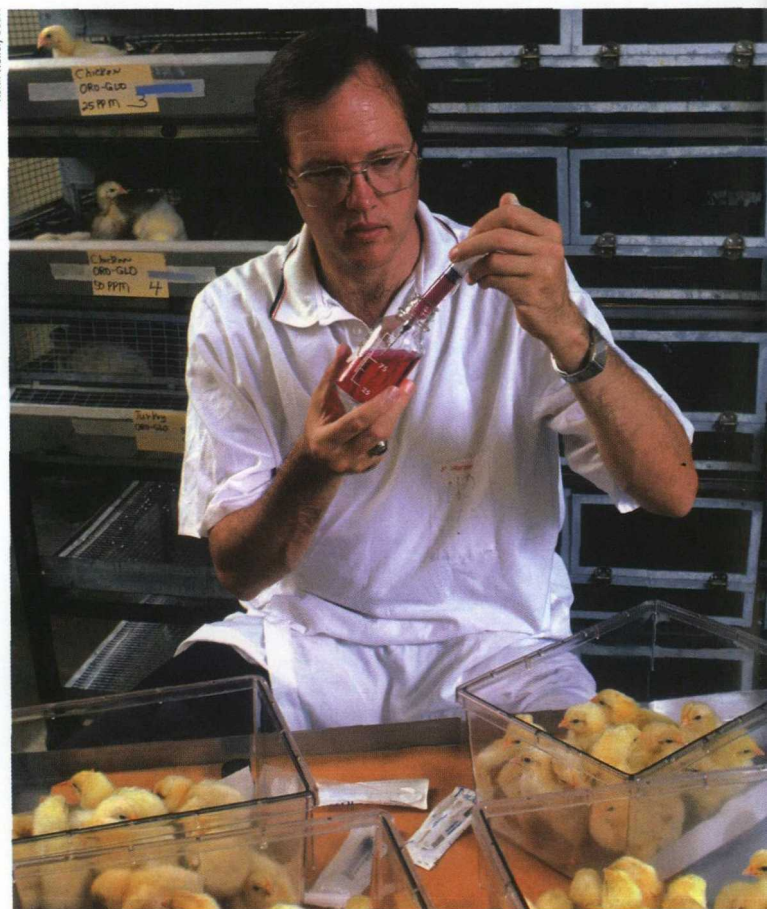
Pałeczka z kurczaka

U człowieka infekcja *Campylobacter* może mieć groźne konsekwencje. Objawy zakażenia są różnorodne, głównie od słabych do silnych stanów zapalnych jelit manifestujących się krwawą i śluzową biegunką. Niestety u części chorych osób dochodzi jednak do ogólnoustrojowych infekcji, przeniesienia zakażenia na inne organy oraz /lub do posocznicy. Ciężkie objawy chorobowe dotyczą głównie osób o obniżonej odporności (małe dzieci w wieku poniżej dwóch lat, ludzie starsi, ludzie po przebytych chorobach nowotworowych czy nosiciele HIV). Poważną konsekwencją zakażenia *C. jejuni* może być wystąpienie chorób autoimmunizacyjnych, takich jak reaktywny artretyzm oraz choroby neurologiczne: zespół Guillain-Barré (30–40%

przypadków jest następstwem infekcji *Campylobacter*) lub zespół Miller-Fisher.

Niewątpliwie głównym źródłem zarazka są kurczęta. Ulegają kolonizacji we wczesnym okresie życia, a zakażenie rozprzestrzenia się na fermach bardzo szybko, praktycznie dochodząc do 100% ptaków w stadzie. Co ciekawe, mimo że poziom kolonizacji jelit kurcząt jest bardzo wysoki (nawet 10^{10} komórek bakterii na 1 g zawartości jelit), nie wywołuje to u nich objawów chorobowych, co uniemożliwia eliminację ze stad osobników zainfekowanych. Zupełnie odwrotnie jest u ludzi: do zakażenia dochodzi stosunkowo łatwo i wystarcza do tego mała liczba pałeczek *Campylobacter*. W krajach rozwiniętych infekcję najczęściej powoduje spożycie niedogotowanego drobiu, nie pasteryzowanego mleka

Keith Welter/USDA



Szczepionka nowej generacji skonstruowana dzięki precyzyjnym genetycznym modyfikacjom uodparnia kurczaki na zakażenia groźnymi dla zdrowia człowieka bakteriami *Campylobacter* sp

lub wody zanieczyszczonej bakteriami. Niestety nawet 50–90% tusz kurcząt znajdujących się w sprzedaży zawiera duże ilości bakterii z rodzaju *Campylobacter*.

Jak dotąd, zabiegi poprawiające higienę na fermach nie dały oczekiwanych rezultatów w zapobieganiu zakażeniom *Campylobacter*. Inne testowane w USA i UE drogi eliminacji tych pałeczek to zastosowanie bakteryjnych wirusów oraz wprowadzenie do powszechnego stosowania szczepionki anti-*Campylobacter* dla drobiu oraz ludzi z grup ryzyka.

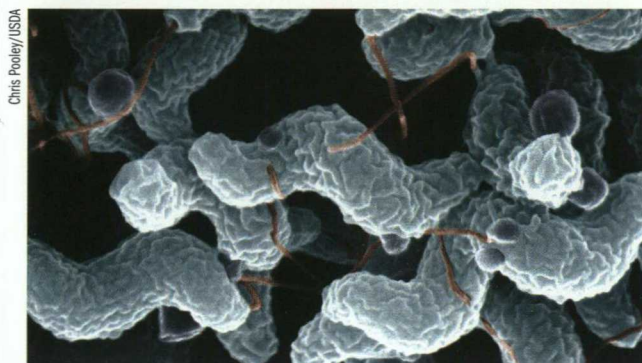
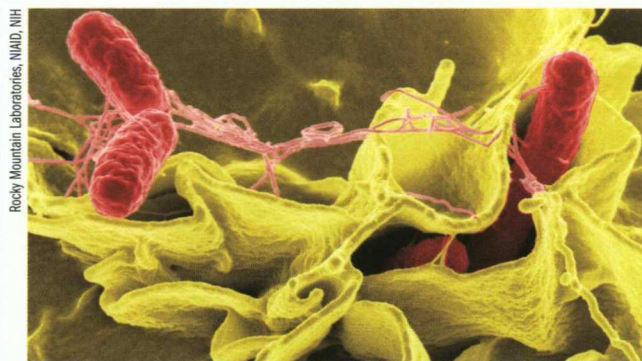
Podwójna broń

Celem badań prowadzonych w Zakładzie Genetyki Bakterii UW jest wykorzystanie specjalnie skonstruowanych szczepów *Salmonella* (*Salmonella enterica* sv Typhimurium χ 3987) do stworzenia nowej szczepionki przeciwko *Campylobacter*. Dzięki modyfikacjom genetycznym szczepy te nie powodują choroby, ale wywołują odpowiedź układu immunologicznego. Przy konstrukcji szczepionki przeciw *Campylobacter* posuwamy się do swego rodzaju triku: szczepowi *Salmonella* wprowadzamy geny *Campylobacter*, dzięki czemu wytwarza on nie tylko białka własne, ale także białka *Campylobacter*. Są one zapamiętywane przez kurzy układ odpornościowy. Szczep ten może być zatem skuteczną szczepionką zarówno przeciwko *Salmonella*, jaki i *Campylobacter*!

Opracowaliśmy prototyp tej tzw. bivalentnej szczepionki. Skonstruowany w ZGB szczep *Salmonella enterica* χ 3987 jest pochodnym χ 3985, który już od roku 1999 jest chronioną patentem w USA szczepionką dla kurcząt. Nasza *Salmonella* została tak skonstruowana, że nie jest możliwa jej rewersja do chorobotwórczego typu wyjściowego oraz, co istotne przy monitorowaniu stad zwierząt, jest ją łatwo odróżnić od szczepów typu dzikiego. Dodaje się ją do łatwej paszy, co jest wielką zaletą opracowanego systemu. Okazuje się, że u kur karmionych szczepionką na stosunkowo wysokim poziomie indukuje się powstawanie specyficznych przeciwciał (anty-*Salmonella* i anty-*Campylobacter*) klasy IgG w surowicy oraz klasy s-IgA w śluzie jelitowym. Aby wzmocnić tzw. odpowiedź humoralną, czyli zwiększyć poziom specyficznych, sekrecyjnych przeciwciał obecnych w świetle jelit, testujemy obecnie zastosowanie odpowiednich adiuwantów. Z trzech przebadanych antygenów *Campylobacter*, najsilniejszym immunogenem okazał się być produkt genu *cjaA*. Przeprowadzony w laboratorium pilotażowy eksperyment „ochronny” wykazał, że prototyp naszej szczepionki jest skuteczny: z 25 immunizowanych ptaków tylko trzy uległy zakażeniu szczepem *Campylobacter*, podczas gdy wszystkie kurczęta z grupy kontrolnej zostały skolonizowane na stosunkowo wysokim poziomie.

Strategia przyszłości

Proponowana strategia uodparniania kurcząt powinna skutecznie zapobiegać kolonizacji ich przewodu pokarmowego przez dwa rodzaje chorobotwórczych dla ludzi



Groźna *Salmonella* (góra), dzięki modyfikacjom genetycznym, staje się zupełnie nieszkodliwa i jest wykorzystywana do konstruowania nowoczesnych szczepionek. *Campylobacter jejuni* (dół) – niegroźna dla kur, jest najczęstszą przyczyną poważnych stanów zapalnych jelita u ludzi

mikroorganizmów: rodzaju *Salmonella* i *Campylobacter*, a tym samym spowodować znaczące obniżenie poziomu ludzkich infekcji. Dodatkowo ta sama szczepionka mogłaby być zastosowana do uodparniania innych gatunków drobiu, np. indyków, ponieważ infekcje *Campylobacter* stanowią problem także w ich stadach. Pozwoli ona także ograniczyć lawinowy wzrost liczby opornych na antybiotyki szczepów bakterii. Jednoczesne uodparnianie stad kurcząt przeciwko dwóm drobnoustrojom upraszcza kalendarz szczepień i jest korzystne z ekonomicznego punktu widzenia. Szczepy *Salmonella* o osłabionej zjadliwości są aktualnie w wielu laboratoriach sprawdzane jako nośniki obcych genów innych chorobotwórczych dla ludzi czy zwierząt organizmów (wirusy, bakterie, pierwotniaki) i nie jest wykluczone, że będą podstawą wielu szczepionek nowej generacji. ■

Chcesz wiedzieć więcej?

Wyszyńska A., Raczek A., Jagusztyn-Krynicka E.K. (2004). Oral immunization of chicken with avirulent *Salmonella* vaccine strain expressing *C. jejuni cjaA* gene elicits specific mucosal and systemic immune responses associated with protection against challenge with wild-type *Campylobacter*. *Vaccine*, 22, 1379–1386.

Ketley J., Konkel M.E. (2005). *Campylobacter: Molecular and Cellular Biology*. Washington: Horizon Bioscience.