

Streszczenie rozprawy doktorskiej pt. „Ocena w badaniach na modelu mysim ochronnych właściwości szczepionki eksperymentalnej w porównaniu do szczepionek stosowanych w powszechnych szczepieniach ochronnych przy użyciu szczepów *Bordetella pertussis* o zróżnicowanym profilu genetycznym”.

Doktorant: mgr Marta Prygiel

Promotor: dr hab. Aleksandra Zasada, prof. NIZP-PZH

Pomimo globalnych programów szczepień krztusiec pozostaje endemiczny na całym świecie i nadal uznawany jest za istotny problem zdrowia publicznego. Obecnie zapadalność na krztusiec jest znacznie niższa niż w erze przed rozpoczęciem szczepień jednak od połowy lat 90-tych obserwowany jest stabilny wzrost zapadalności w krajach o wysokim poziomie zaszczepienia populacji. Niepokojący jest fakt wzrostu częstości hospitalizacji oraz umieralności nieuodpornionych lub nie w pełni uodpornionych noworodków i niemowląt.

Hipoteza rozprawy zakładała, że wzrost zachorowań na krztusiec obserwowany od połowy lat 90-tych w Polsce oraz w innych krajach o wysokim poziomie zaszczepienia populacji powiązany jest zarówno ze spadkiem wzbudzonej odpowiedzi ochronnej w miarę upływu czasu od podania ostatniej dawki szczepionki przeciw krztuścowi jak również z pojawieniem się nowych wariantów szczepów *B. pertussis*, antygenowo odmiennych od szczepów wchodzących w skład stosowanej szczepionki, potencjalnie mniej wrażliwych na działanie odpowiedzi odpornościowej indukowanej drogą szczepień.

Głównym celem pracy było określenie wpływu zastosowanego typu oraz dawek szczepionek przeciw krztuścowi – całokomórkowej eksperymentalnej (wP-exp) oraz szczepionek komercyjnych - całokomórkowej (wP) i bezkomórkowej (aP) na uzyskiwanie przewagi selekcyjnej przez szczepy *B. pertussis* o różnych profilach genetycznych, w zakażeniach *in vivo* myszy doświadczalnych immunizowanych zmniejszającymi się dawkami badanych szczepionek. Immunizacja zmniejszającymi się dawkami szczepionek stanowi symulację spadku poziomu odpowiedzi ochronnej w czasie. W pracy przeprowadzono analizę dynamiki eliminacji zakażeń szczepami *B. pertussis*, o różnych profilach alleli genów kodujących czynniki wirulencji, z tkanki płuc myszy immunizowanych szczepionkami komercyjnymi oraz szczepionką eksperymentalną zawierającą w składzie szczepy *B. pertussis* zastosowane do zakażenia. Dodatkowo określono różnice oraz dynamikę poziomów odpowiedzi poszczepiennej wobec szeregu antygenów: PT (toksyny krztuścowej), PRN (pertaktyny), FHA (włókienkowej hemaglutyniny) oraz FIM (fimbrii typu 2 i 3) u myszy szczepionych zmniejszającymi się dawkami poszczególnych szczepionek.

W przypadku zastosowania do immunizacji optymalnej dawki ochronnej szczepionki wykazano, że różnice w obrębie profili alleli genów kodujących czynniki wirulencji między szczepami szczepionkowymi a szczepami zastosowanymi do zakażenia eksperymentalnego nie wpływają negatywnie na efektywność komercyjnych szczepionek przeciw krztuścowi.

Zaobserwowano istotną statystycznie różnicę w eliminacji szczepów przez szczepionkę wP w porównaniu do aP. W porównaniu do szczepionki aP, szczepionka wP eliminowała szczepy szybciej, bez względu na ich rodzaj oraz czas jaki upłynął od immunizacji do zakażenia. Najszybszą eliminację każdego ze szczepów zaobserwowano w przypadku zastosowania do immunizacji szczepionki wP-exp.

Badania kolonizacji tkanki płuc myszy przez szczepy *B. pertussis* nie wykazały uzyskania przewagi selekcyjnej w czasie przez którykolwiek ze szczepów wchodzących w skład mieszaniny zakażającej zarówno u myszy immunizowanych jak i u myszy kontrolnych. Bez względu na typ zastosowanej szczepionki do immunizacji oraz czas jaki upłynął od immunizacji do zakażenia, wykazano, że optymalna dawka ochronna szczepionki zapewniała ochronę przed każdym szczepem zastosowanym do zakażenia. Wykazano, że szybkość eliminacji szczepów rosła wraz z upływem czasu od immunizacji do zakażenia oraz malała wraz ze zmniejszaniem się dawki szczepionki.

Przeprowadzone badania serologiczne wykazały, że tylko szczepionka aP indukowała wytworzenie przeciwciał anti-PT a poziom tych przeciwciał rósł w czasie jaki upłynął od immunizacji. Każda z zastosowanych do immunizacji szczepionek indukowała przeciwciała anti-FHA. Dawka optymalna szczepionek (1/20) indukowała znacząco wyższy poziom przeciwciał w porównaniu do dawek 1/500 1/1000. Wyniki poziomu przeciwciał anti-FHA po 60 dniach i 120 dniach po immunizacji dawką 1/20 nie różniły się między sobą ale były istotnie wyższe niż po 30 dniach. W przypadku przeciwciał anti-FIM wartości po 30 dniach od immunizacji uzyskane dla trzech zastosowanych w pracy typów szczepionek były porównywalne statystycznie. Poziom przeciwciał anti-FIM po 60 oraz 120 dniach od immunizacji szczepionką wP był istotnie wyższy niż w przypadku immunizacji szczepionkami wP-exp i aP. Istotnie najniższe poziomy przeciwciał anti-FIM w każdym punkcie czasowym uzyskano w przypadku immunizacji szczepionką aP, największy spadek poziomu przeciwciał zaobserwowano między 60 a 120 dniem od immunizacji. W przypadku przeciwciał anti-PRN wyniki uzyskane dla szczepionki aP w trzech badanych punktach czasowych nie różniły się między sobą ale zawsze były niższe niż dla szczepionek wP i wP-exp. Najwyższy poziom przeciwciał anti-PRN uzyskano po 120 dniach od immunizacji szczepionką wP. Istotnie wyższe statystycznie wyniki przeciwciał anti-PRN uzyskano dla dawki optymalnej (1/20) w porównaniu do dawek 1/500 oraz 1/1000.