



Biomed Lublin

Różnorodność prątków BCG

Podszczep
BCG Moreau

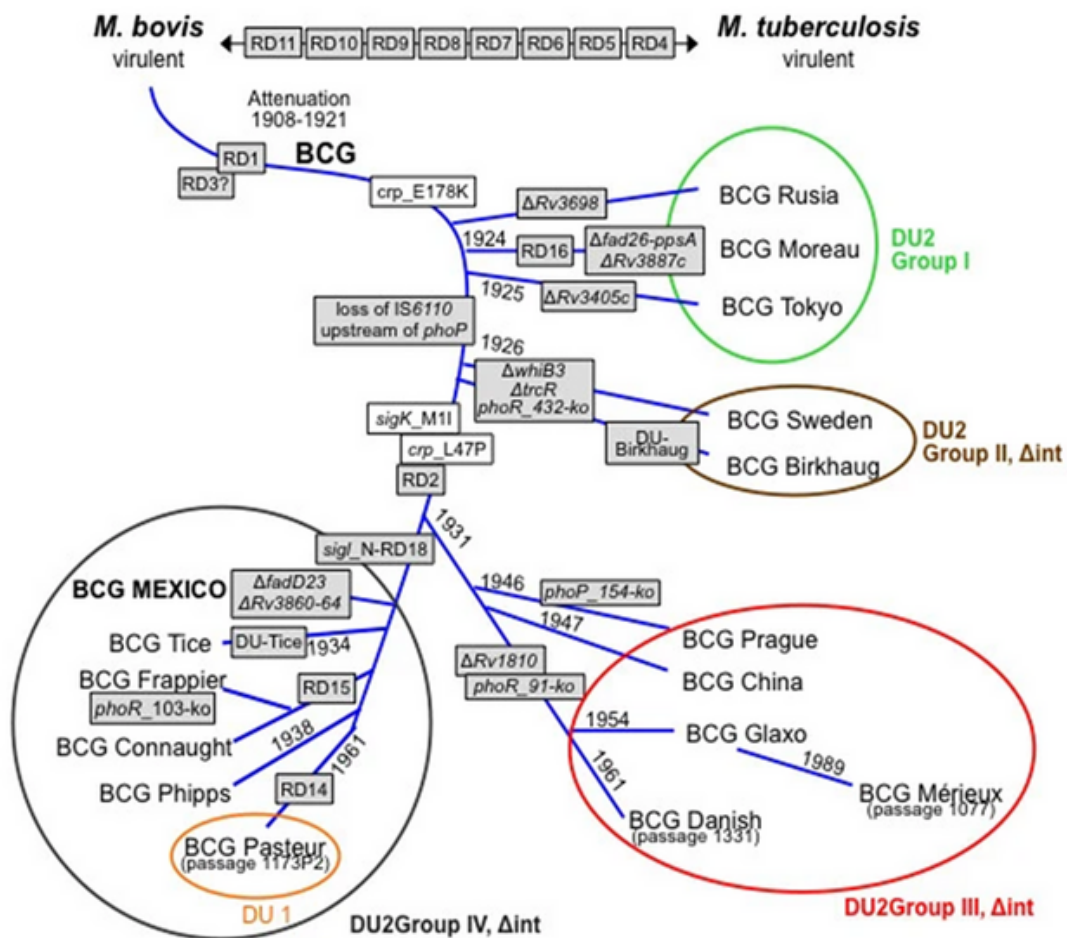


Opracowała:
dr inż. Monika Wójcik- Żydek
Dział Rozwoju

Zmienność prątków BCG

Od 1924 roku atenuowany prątek *Mycobacterium bovis* uzyskany przez Albert Calmette i Camille Guérin, był dystrybuowany do różnych laboratoriów na całym świecie. Przed wprowadzeniem systemu serii siewnej każdy ze szczepów był hodowany i pasażowany w odmiennych warunkach. W ten sposób doszło do odrębnej mikroewolucji i uzyskania ponad 14 różniących się między sobą podszczeptów BCG [1].

Obecnie dzięki technikom biologii molekularnej możliwe jest uchwycenie regionów zmiennych w genomie poszczególnych podszczeptów BCG, które przekładają się na różnice w budowie ściany komórkowej, immunogenności i zjadliwości resztkowej. Zmienność genetyczna różnych podszczeptów BCG związana jest z obecnością w ich genomach sekwencji insercyjnych, delecji, duplikacji lub polimorfizmu pojedynczych nukleotydów (SNPs -single nucleotide polymorphisms), których liczba jest charakterystyczna dla danego podszczeptu i stanowi wzór genetyczny tzw. fingerprint.



Rysunek 1. Mutacje zachodzące w szczepach BCG na przestrzeni lat [2].

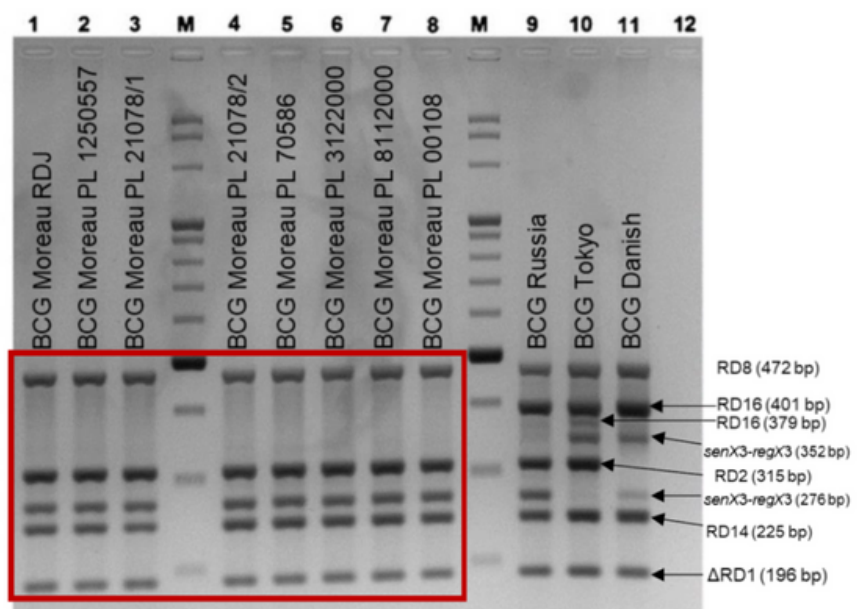
Zaobserwowane różnice genotypowe umożliwiają podział podszczerpów BCG na „wczesne” pozyskane do 1927 r. i do tej grupy zalicza się m.in. japoński – Japan/Tokio, brazylijski – Moreau i rosyjski – Russia/Moscow, szwedzki, Birkhaug oraz podszczerpy „późne” ewolucyjnie np. kanadyjski – Connaught, duński – Danish/Copenhagen, BCG-Glaxo, meksykański, Phipps i BCG-Tice, francuski – Pasteur, czeski – Prague oraz australijski. Z kolei, ze względu na stopień immunogenności podszczerpy dzielone są na silne (np. Danish, Pasteur, Russia, Sweden) oraz słabe (np. Glaxo, Moreau, Japan, Prague). W aktualnym stanie nauki nie potwierdzono jednoznacznie przewagi skuteczności produktów BCG bazujących na jednym ze znanych podszczerpów nad pozostałymi. Jednakże stwierdzono, że silne podszczerpy mają większą siłę immunogenną i są bardziej reaktogenne, powodując więcej niepożądanych odczynów poszczepiennych, niż podszczerpy słabe [2, 3, 4].

Mycobacterium bovis BCG podszczerp Moreau

Podstawową różnicą między genomem wirulentnych szczepów *M. bovis* i *M. tuberculosis*, a atenuowanymi BCG jest delecja regionu RD1. Region RD1 jest nieobecny u wszystkich atenuowanych szczepów BCG. Naukowcy potwierdzają, że delecja RD1 odgrywa istotną rolę w utracie zjadliwości szczepów BCG [5]. Występowanie innych delecji w ściśle określonych regionach RD jest swoiste dla poszczególnych grup podszczerpów BCG. **Dla podszczerpu BCG Moreau zidentyfikowano unikatową delecję RD 16 obserwowaną wyłącznie w genomie tego podszczerpu.** Dodatkowo podszczerp BCG Moreau charakteryzuje się występowaniem duplikacji DU2-1 i zawiera dwie kopie transpozycyjnego elementu IS 6110 [2,6,7].

Rysunek 2

Rozdział elektroforetyczny produktów reakcji multiplex PCR dla: lane 1, BCG Moreau RDJ; lane 2, BCG Moreau (oral vaccine, lot no. 1250557); lane 3, BCG Moreau (master seed 21078/1); lane 4, BCG Moreau (master seed 21078/2); lane 5, BCG Moreau (1st working seed 70586); lane 6, BCG Moreau (2nd working seed 312200); lane 7, BCG Moreau (2nd working seed 8112000); lane 8, BCG Moreau (vaccine lot no. 00108); lane 9, BCG Russia; lane 10, BCG Tokyo; lane 11, BCG Danish; lane 12, Kontrola negatywna; M, Marker wielkości 100 pz [14].





Do głównych cech fenotypowych różnicujących podszczyepy BCG zalicza się występowanie w różnych proporcjach alfa-, metoksy- i ketomykolanów będących podstawowymi składnikami ich ściany komórkowej. Hayashi i in. [9] wykazali, że **tylko „wczesne” szczepy BCG w tym podszczyep Moreau, syntetyzują wszystkie trzy rodzaje kwasów mykoloowych, dzięki czemu wykazują silniejszą indukcję wytwarzania cytokin prozapalnych** [8,9,10].

Dimikolany trehalozy (PDIM) oraz glikolipidy fenolowe (PGL) są również składnikami ściany komórkowej Mycobacterii. Dowiedziono, że istnieje silna korelacja między zdolnością szczepów BCG do wytwarzania tych dwóch lipidów, a skłonnością BCG do wywoływania powikłań po szczepieniu u dzieci. Oba te lipidy zostały więc powiązane z wirulencją i reaktogennością Mycobacterii zdolnych do ich syntezy. **W składzie ściany komórkowej podszczyepu BCG Moreau nie zidentyfikowano ani PIDM ani PGL w związku z tym sklasyfikowano ten podszczyep do tzw. szczepów słabych, a więc wykazujących niższą siłę immunogenną ale powodujących znacznie mniej niepożądanych odczynów poszczepiennych (NOP)** [10,11].

Chociaż wiadomo, że podszczyepy BCG są genetycznie i fenotypowo odrębne, to pochodzą od jednego szczepu macierzystego. Dokładne różnice w ich aktywności nie zostały do tej pory wykazane w randomizowanych badaniach. Z przeglądu piśmiennictwa przeprowadzonego przez Tan i współpracowników w 2020 roku [12] dotyczącego zarówno profilaktyki gruźlicy, jak i zapobiegania nawrotom lub progresji NMIBC wynika, że pomimo różnic w materiale genetycznym i wywołanych odpowiedziach immunologicznych, nie ma solidnych dowodów, że wpływa to na zmienną skuteczność działania poszczególnych podszczyepów BCG.

Przewaga szczepów słabych immunogennie jakim jest BCG podszczyep Moreau polega na większym bezpieczeństwie stosowania przy zachowaniu skuteczności działania. Na tej podstawie w pierwszej połowie XX wieku w Polsce z uwagi na zgłaszane liczne działania niepożądane stosowanej w tym czasie szczepionki na bazie szczepu duńskiego podjęto decyzję o opracowaniu szczepionki opartej na brazylijskim podszczyep Moreau prątka BCG [13].

W Polsce, od 1955 roku każdy noworodek przed wypisem ze szpitala otrzymuje wyprodukowaną przez Biomed Lublin szczepionkę przeciwgruźliczą BCG, którego substancją aktywną jest brazylijski podszczyep BCG Moreau. Biomed Lublin od 1997 r. wykorzystuje również tą samą substancję czynną – żywe, atenuowane, prątki BCG podszczyepu Moreau do wytworzenia leku onkologicznego stosowanego w immunoterapii powierzchownych, nabłonkowych, nieinwazyjnych guzów pęcherza moczowego.

Literatura

- [1] Liu J, Tran V, Leung AS, Alexander DC, Zhu B. BCG vaccines: their mechanisms of attenuation and impact on safety and protective efficacy. *Hum Vaccin*. 2009 Feb;5(2):70-8. doi: 10.4161/hv.5.2.7210. Epub 2009 Feb 20. PMID: 19164935.
- [2] Brosch R, Gordon SV, Garnier T, Eiglmeier K, Frigui W, Valenti P, Dos Santos S, Duthoy S, Lacroix C, Garcia-Pelayo C, Inwald JK, Golby P, Garcia JN, Hewinson RG, Behr MA, Quail MA, Churcher C, Barrell BG, Parkhill J, Cole ST. Genome plasticity of BCG and impact on vaccine efficacy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 Mar 27;104(13):5596-601. doi: 10.1073/pnas.0700869104. Epub 2007 Mar 19. PMID: 17372194; PMCID: PMC1838518.
- [3] Horwitz MA, Harth G, Dillon BJ, Maslesa-Galić S. Commonly administered BCG strains including an evolutionarily early strain and evolutionarily late strains of disparate genealogy induce comparable protective immunity against tuberculosis. *Vaccine*. 2009 Jan 14;27(3):441-5. doi: 10.1016/j.vaccine.2008.10.058. Epub 2008 Nov 11. PMID: 19007841; PMCID: PMC2657049.
- [4] Zhang L, Ru HW, Chen FZ, Jin CY, Sun RF, Fan XY, Guo M, Mai JT, Xu WX, Lin QX, Liu J. Variable Virulence and Efficacy of BCG Vaccine Strains in Mice and Correlation With Genome Polymorphisms. *Mol Ther*. 2016 Feb;24(2):398-405. doi: 10.1038/mt.2015.216. Epub 2015 Dec 8. PMID: 26643797; PMCID: PMC4817822.
- Krysztopa-Grzybowska K, Lutyńska A. Microevolution of BCG substrains. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2016 Dec 21;70(0):1259-1266. PMID: 28026828.
- [5] Lewis KN, Liao R, Guinn KM, Hickey MJ, Smith S, Behr MA, Sherman DR. Deletion of RD1 from *Mycobacterium tuberculosis* mimics bacille Calmette-Guérin attenuation. *J Infect Dis*. 2003 Jan 1;187(1):117-23. doi: 10.1086/345862. Epub 2002 Dec 2. PMID: 12508154; PMCID: PMC1458498.
- [6] Li H, Ulstrup JC, Jonassen TO, Melby K, Nagai S, Harboe M. Evidence for absence of the MPB64 gene in some substrains of *Mycobacterium bovis* BCG. *Infect Immun*. 1993 May;61(5):1730-4. doi: 10.1128/iai.61.5.1730-1734.1993. PMID: 8478061; PMCID: PMC280758.
- [7] Krysztopa-Grzybowska K, Lutyńska A. Microevolution of BCG substrains. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2016 Dec 21;70(0):1259-1266. PMID: 28026828.
- [8] Behr MA, Schroeder BG, Brinkman JN, Slayden RA, Barry CE 3rd. A point mutation in the *mma3* gene is responsible for impaired methoxymycolic acid production in *Mycobacterium bovis* BCG strains obtained after 1927. *J Bacteriol*. 2000 Jun;182(12):3394-9. doi: 10.1128/JB.182.12.3394-3399.2000. PMID: 10852869; PMCID: PMC101902.
- [9] Hayashi D, Takii T, Fujiwara N, Fujita Y, Yano I, Yamamoto S, Kondo M, Yasuda E, Inagaki E, Kanai K, Fujiwara A, Kawarazaki A, Chiba T, Onozaki K. Comparable studies of immunostimulating activities in vitro among *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin (BCG) substrains. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2009 Jul;56(2):116-28. doi: 10.1111/j.1574-695X.2009.00559.x. Epub 2009 Apr 27. PMID: 19453755.
- [10] Secanella-Fandos S, Luquin M, Julián E. Connaught and Russian strains showed the highest direct antitumor effects of different *Bacillus Calmette-Guérin* substrains. *J Urol*. 2013 Feb;189(2):711-8. doi: 10.1016/j.juro.2012.09.049.
- [11] Chen JM, Islam ST, Ren H, Liu J. Differential productions of lipid virulence factors among BCG vaccine strains and implications on BCG safety. *Vaccine*. 2007 Nov 23;25(48):8114-22. doi: 10.1016/j.vaccine.2007.09.041. Epub 2007 Oct 8. PMID: 17954004.
- [12] Tan GH, Kuk C, Zlotta AR. Are there differences among bacillus Calmette-Guérin (BCG) strains regarding their clinical efficacy in the treatment of non-muscleinvasive bladder cancer? The jury is still out but the answer is likely no. *Can Urol Assoc J*. 2020 Feb;14(2):E54-E56. doi: 10.5489/cuaj.5923. Epub 2019 Jul 23. PMID: 31348742; PMCID: PMC7012286.
- [13] <https://szczepienia.pzh.gov.pl/faq/kiedy-wprowadzono-w-polsce-szczepienia-bcg/>
- [14] Krysztopa-Grzybowska K, Brzezińska S, Augustynowicz-Kopeć E, Polak M, Augustynowicz E, Lutyńska A. Descendant of daughter Brazilian BCG Moreau substrain in Poland. *Vaccine*. 2012 Aug 10;30(37):5512-8. doi: 10.1016/j.vaccine.2012.06.056. Epub 2012 Jun 27. PMID: 22749596.



Niniejszy artykuł został opracowany na podstawie dostępnych publikacji naukowych. Intencją autorów jest zwrócenie uwagi czytelników na najważniejsze aspekty związane ze szczepem szczepionkowym M. bovis BCG celem podniesienia ich wiedzy i świadomości w tematach ochrony zdrowia i życia ludzi.

Treść w nim zawarta ma charakter edukacyjny i informacyjny, nie może ono być traktowane jako forma doradztwa czy konsultacji i jako takie nie może zastępować porady lekarza lub z farmaceuty.

Źródła będące podstawą wybranych cytatów lub szerszych wątków zostały podane w końcowej części materiału.

Wszelkie odesłania do leków i wyrobów medycznych mają charakter jedynie ilustracyjny, nie stanowią oferty w rozumieniu przepisów Kodeksu Cywilnego, w żadnym wypadku nie mogą być wykorzystywane do stwierdzenia jakie leki/wyroby medyczne powinny być przyjmowane przez daną osobę.

Publikacja może zawierać opinie ekspertów z dziedzin związanych z działalnością Spółki lub wyciągi z artykułów prasowych.

Wszystkie takie informacje stanowią wyłącznie opinie ekspertów, którzy je wyrazili lub są publikacjami osób trzecich, w związku z czym nie muszą stanowić poglądów Spółki. Opinie ekspertów odzwierciedlają ich osobiste poglądy i nigdy nie należy interpretować ich jako opinii lub zobowiązań Spółki.

Publikacja może zawierać odnośniki a(linki) a do stron internetowych a osób trzecich. Z odnośników tych użytkownik korzysta na własne ryzyko.

Spółka nie odpowiada za informacje znajdujące się na stronach internetowych osób trzecich.

„BIOMED-LUBLIN” WSiSz S.A. oświadcza, że dokłada wszelkich starań, aby publikowane materiały były rzetelne i oparte na kompetentnych źródłach, jednak nie gwarantuje ich dokładności, aktualności czy też kompletności.

„BIOMED-LUBLIN” WSiSz S.A. nie ponosi odpowiedzialności za jakiegokolwiek szkody czy straty powstałe w związku z korzystaniem z publikacji ani też za słuszność decyzji podjętych w oparciu o udostępniane informację (medyczne lub inne). Materiał nie ma charakteru komercyjnego i nie stanowi oferty handlowej.