

УДК 615.382.014.45

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА УРОВНЯ АНТИТЕЛ К АНТИГЕНАМ, ИСПОЛЬЗОВАННЫМ ДЛЯ ВАКЦИНАЦИИ ДОНОРОВ ПЛАЗМЫ ДЛЯ ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ

Л.В. Ренева^{1*}, Л.В. Волкова², Е.В. Орлова³

¹НПО «Микроген», «Пермское НПО «Биомед»»,

²Пермский национальный исследовательский политехнический университет,

³Пермская государственная фармацевтическая академия, Россия

COMPARATIVE ASSESSMENT OF LEVELS OF ANTIBODIES TO ANTIGENS USED TO VACCINATE PLASMA DONORS FOR FRACTIONATING

L.V. Reneva^{1*}, L.V. Volkova², E.V. Orlova³

¹Scientific Production Association "Microgen", "Perm SPA "Biomed",

²Perm National Research Polytechnical University,

³Perm State Pharmaceutical Academy, Russian Federation

Цель. Провести сравнительную оценку уровня антител к антигенам, использованным для вакцинации, и к посторонним вакцинным антигенам у доноров при иммунизации разными вакцинами.

Материалы и методы. Проведенное предвакцинальное обследование 9459 доноров плазмы для фракционирования за период 2008–2011 гг. (возраст доноров находился в диапазоне от 18 до 60 лет) включало определение в сыворотке крови доноров антител к столбнячному анатоксину. Определение уровня специфических антител к анатоксину столбняка проводили с использованием набора реагентов для выявления антитоксических дифтерийных и столбнячных антител «ИФА анти ДС» (ФГУП НПО «Микроген», г. Пермь). Для проведения иммунизации доноров использовали анатоксин столбнячный очищенный адсорбированный жидкий для доноров (АС-анатоксин для доноров) (ФГУП НПО «Микроген», г. Пермь).

Результаты. Выявлены изменения иммунного ответа доноров, имевших ранее в анамнезе иммунизации вакцинами против клещевого энцефалита, при последующих иммунизациях анатоксином для доноров, а именно увеличение продукции антител не только на анатоксин столбнячный для доноров, но и в целом. Выявлена сильная степень линейной связи между увеличением продукции антител к столбнячному токсину и вирусу клещевого энцефалита ($r = 0,73$).

Выводы. Установлена целесообразность проведения иммунизаций столбнячным анатоксином доноров, ранее иммунизированных вакциной клещевого энцефалита, в интервалах между отдаленными ревакцинациями, что позволяет более рационально использовать иммунную донорскую плазму, а при необходимости перенаправлять ее для производства других видов направленных иммуноглобулинов.

Ключевые слова. Специфические иммуноглобулины, иммунитет, поствакцинальные антитела.

© Ренева Л.В., Волкова Л. В., Орлова Е.В., 2016

тел. 8 902 806-33-78

e-mail: l.v.reneva@mail.ru

[Ренева Л.В. (контактное лицо) – кандидат медицинских наук, заведующая донорским пунктом; Волкова Л.В. – доктор медицинских наук, профессор кафедры химии и биотехнологии; Орлова Е.В. – доктор фармацевтических наук, заведующая кафедрой технологии лекарственных средств с курсом биотехнологии].

Aim. The aim of the study was to compare the level of antibodies to antigens, which were used for vaccination, and those to foreign vaccine antigens among donors immunized with different vaccines.

Materials and methods. The prevaccinal examination of 9459 plasma donors for fractionating during the period from 2008 to 2011 (donors aged 18-60) included determination of blood serum AB to tetanus anatoxin (TA). The level of specific antibodies to tetanus anatoxin was assessed using assay kit for detection of antitoxic diphtheria and tetanic antibodies "IFA anti DS" (SPA "Microgen", Perm). To carry out donors' immunization, tetanus anatoxin – refined, adsorbed, liquid for donors (NPU "Microgen", Perm) was used.

Results. Changes in immune response of donors (who had in anamnesis immunizations with vaccines against TBE) were found in case of subsequent immunizations with TA for donors, that is, increase in AB production not only with TA for donors, but as a whole. A high degree of linear correlation between increase in production of AB to tetanus toxin and tick-borne encephalitis vaccine ($r = 0,73$) was revealed.

Conclusions. It is recommended to carry out tetanus anatoxin immunization of donors, earlier immunized with tick-borne encephalitis vaccine, in the intervals between remote revaccinations that will permit to use immune donor plasma more rationally, and if necessary, to use it for production of the other types of directed immunoglobulins.

Key words. Specific immunoglobulins, immunity, postvaccinal antibodies.

ВВЕДЕНИЕ

Потребность отечественного здравоохранения в препаратах специфических иммуноглобулинов столь высока, что не может быть удовлетворена только за счет заготовки иммунной плазмы путем выявления доноров с «естественно» высоким содержанием антибактериальных и противовирусных антител [1, 2] и требует разработки новых методов иммунизации, изучения вопроса реактивности донорства, увеличения сроков иммунологической напряженности организма, а следовательно, и повышения специфической активности гипериммунной плазмы для производства специфических иммуноглобулинов [3]. Общефизиологические закономерности функционирования иммунной системы, по которым развивается динамика первичного и вторичного иммунного ответа клеток иммунной системы, сформулирована еще академиком Здродовским. Иммунный ответ при вакцинации обусловлен генетическими факторами, а также реакцией на антиген лимфоидных клеток [4–7]. В основе вакцинации лежит иммунологический феномен, называемый иммунологической памятью. Этот феномен используется во всех программах вакцинации, когда формируется длительно живущая

популяция специализированных лимфоцитов памяти, либо имеется персистенция непосредственно уровня антигена, который продолжает рестимулировать антиген (АГ)-специфические лимфоциты [6, 7, 8].

Приобретенный поствакцинальный иммунитет обладает двумя уникальными признаками – специфичностью и иммунологической памятью. Именно благодаря иммунологической памяти удастся искусственно формировать длительный иммунитет, являющийся основным фактором, позволяющим использовать плазму таких доноров для производства направленных иммуноглобулинов [7, 11]. До сих пор не проводились исследования по сравнительной оценке уровня антител к антигенам, использованным для вакцинации, и к посторонним вакцинным антигенам у доноров при иммунизации разными вакцинами, что является весьма важным в решении вопроса новых иммунизаций доноров с целью получения специфических иммуноглобулинов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводили на базе донорского пункта филиала ФГУП «Микроген» Министерства здравоохранения России

в г. Перми «Пермское НПО «Биомед»». Проведенное предвакцинальное обследование 9459 доноров плазмы для фракционирования за период 2008–2011 гг. (возраст доноров находился в диапазоне от 18 до 60 лет) включало определение в сыворотке крови доноров АТ к столбнячному анатоксину (АС). При наличии известного прививочного анамнеза, иммунизаций вакцинами, в состав которых входил столбнячный компонент (АДС; АДС-М, АС 20 ЕС), более пяти лет назад, обнаружении в сыворотке крови доноров АТ к столбнячному анатоксину менее 4 МЕ/мл проводили иммунизацию доноров АС для доноров, которая рассматривалась как ревакцинация. По результатам предвакцинального скрининга для проведения вакцинации АС было отобрано 3838 доноров в возрасте от 26 до 56 лет, из них 48 % мужчин и 52 % женщин, доноров крови – 64 %, доноров плазмы – 36 %. Допуск донора к донации крови/плазмы осуществляли на основании приказа МЗ РФ № 364. Доноры в письменной форме давали добровольное согласие на проведение процедуры крово-, плазмодачи и проведение иммунизации.

Определение уровня специфических антител к анатоксину столбняка проводили с использованием набора реагентов для выявления антитоксических дифтерийных и столбнячных антител «ИФА анти ДС» (ФГУП НПО «Микроген», г. Пермь).

Для проведения иммунизации доноров использовали анатоксин столбнячный очищенный адсорбированный жидкий для доноров (АС-анатоксин для доноров) (ФГУП НПО «Микроген», г. Пермь). Вакцинацию осуществляли в соответствии с инструкцией по применению АС. Уровень продукции АТ к столбняку определяли методом ИФА при каждой донации.

Статистический анализ результатов проводили с использованием методов описательной статистики, одно- и двухфакторного дисперсионного анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для защиты от некоторых инфекций достаточно очень низких концентраций антител в крови: так, для защиты от столбняка и гепатита В достаточно, чтобы концентрация АТ составляла 0,01 МЕ/мл, но для производства специфических иммуноглобулинов необходимо, чтобы в крови доноров концентрация АТ была в сто раз выше. Проведенные клинические исследования показали, что в комплексной иммунологической защите организма важное место принадлежит гуморальным факторам иммунитета. Доноры, дающие выраженный иммунный ответ на введение антигена, имеют определенные особенности иммунного состояния [9]. Поэтому изучение вопросов взаимосвязи показателей клеточного и гуморального иммунитета с силой иммунного ответа, а также применение иммунологических тестов для отбора лиц на иммунизацию с последующим плазмореферезом способствуют рациональному использованию донорских кадров [2, 9, 10].

Проведение иммунизации населения Российской Федерации в соответствии с календарем профилактических прививок, обеспечивая образование специфического, протективного иммунитета пациента, не решает в полной мере вопроса обеспечения сырьем для производства специфических иммуноглобулинов из плазмы таких доноров. Встает вопрос необходимости проведения иммунизации доноров с целью получения иммуноглобулинов направленного действия. В настоящее время для доноров разработаны и утверждены схемы иммунизации такими видами вакцин, как вакцина клещевого энцефалита, столбнячный и стафилококковый анатоксины, с целью выработки у них высокого уровня специфических АТ, позволяющих использовать иммунную плазму в производстве специфических иммуноглобулинов. Чем быстрее снижается иммунитет, тем чаще необходимо вводить бустерные дозы вакцины с целью поддержания напряженного

иммунитета, обеспечивающего наличие высоких титров поствакцинальных АТ, необходимых для производства направленных иммуноглобулинов [7, 11].

Продолжительность сохранения титров АТ 1:20 и выше методом РТГА, позволяющих использовать плазму доноров, иммунизированных от клещевого энцефалита, для производства направленных иммуноглобулинов, составила от 16 до 31 недели.

При иммунизации доноров вакциной против гепатита В с использованием наиболее эффективной стандартной схемы иммунизации наблюдали ежегодное статистически значимое снижение среднегеометрических титров анти-НВs-антител в динамике наблюдения (3 месяца, 6 месяцев, 1 год, 2 года, 3 года, 4 года): $5,9 \pm 0,4$; $3,8 \pm 1,1$; $1,8 \pm 0,4$; $1,4 \pm 0,4$; $0,6 \pm 0,1$; $0,1 \pm 0,1$ МЕ/мл соответственно. Через год после окончания цикла вакцинации 45,0 %, а через 4 года 75,0 % вакцинированных доноров не имели необходимого титра антител (более 1,0 МЕ/мл), выявленных методом иммуноферментного анализа (ИФА).

Снижение продукции АТ у активных доноров плазмы обусловлено как индивидуальными особенностями иммунной системы донора, так и «вымыванием» специфических АТ из организма донора в процессе частых (в среднем до 12) донаций плазмы в год с изъятием более 6,0 литров плазмы ежегодно.

Поэтому снижение специфических АТ после иммунизации у доноров происходило раньше, чем в соответствии с инструкцией по применению вакцин может проводиться ревакцинация. В меньшей степени это затрагивало доноров, иммунизированных вакциной КЭ, поскольку при данной вакцинации предусмотрены повторные ревакцинации через 1 год после окончания цикла иммунизации, а затем каждые три года. В связи с чем вопрос иммунизации таких лиц в интервалах между ревакцинациями, проводимыми в соответствии со схемами применения вакцин, другими видами вакцин стоял весьма остро.

Иммунизация АС доноров приводила не только к увеличению титров АТ к АС, но и к увеличению АТ продукции к вирусу клещевого энцефалита у ранее вакцинированных от КЭ доноров в 3,5 раза уже через месяц после проведенной иммунизации. В течение времени титр АТ к вирусу клещевого энцефалита несколько снижался, но при этом в течение полутора лет сохранялся на достаточно высоком уровне, позволяющем использовать плазму этих доноров для производства иммуноглобулина против КЭ. Были выявлены сильная степень линейной связи между увеличением продукции АТ к АС и ВКЭ ($r = 0,73$). Линейную связь между иммунизацией АС и увеличением АТ к ВГВ выявить не удалось (рисунок).

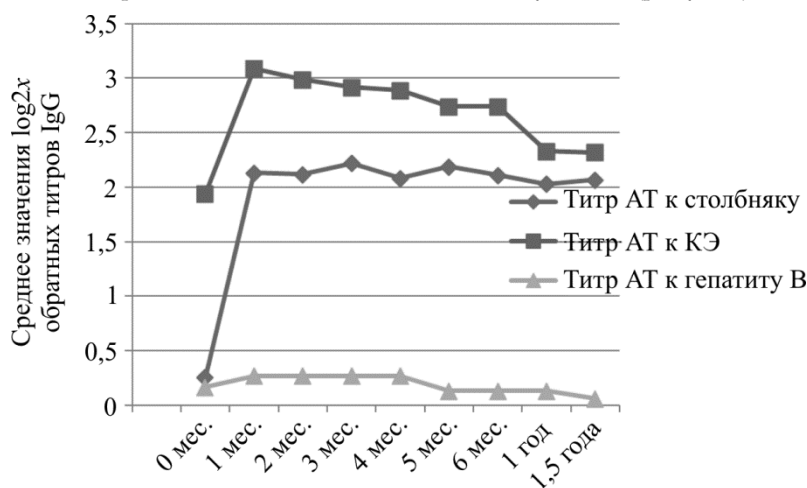


Рис. Изменение титров АТ при иммунизации АС

Выводы

В результате проведенных исследований выявлены изменения иммунного ответа доноров, имевших ранее в анамнезе иммунизации вакцинами против КЭ, при последующих иммунизациях АС для доноров, а именно увеличение продукции АТ не только на АС для доноров, но и в целом. Выявлена сильная степень линейной связи между увеличением продукции АТ к столбнячному токсину и вирусу клещевого энцефалита ($r = 0,73$), что свидетельствует о целесообразности проведения иммунизаций столбнячным анатоксином доноров, ранее иммунизированных вакциной клещевого энцефалита, в интервалах между отдаленными ревакцинациями. Это позволяет более рационально использовать иммунную донорскую плазму, а при необходимости перенаправлять ее для производства других видов направленных иммуноглобулинов.

Библиографический список

1. Анастасиев В.В. Применение иммуноглобулинов: обзор. Н. Новгород: НГМИ 1993; 27.
2. Зайцева Г.А., Разоренов Г.И., Поддубский Г.А. Способ повышения титра специфических антител путем иммунизации доноров, содержащих HLA-антиген В27 при отсутствии антигенов А1, В14 и бланк антигенов локуса С системы HLA: методические рекомендации. Киров 1990 (SU 1504596 А1, 30.08.1989).
3. Медведев Ю.А., Алсынбаев М.М. Основы иммунных и иммунонеправленных методов терапии и профилактики. Уфа 2000; 160.
4. Дейл М.М., Формен Дж. К. Руководство по иммунофармакологии: пер. с англ. М.: Медицина 1998; 332.
5. Змушко Е.И., Белозеров Е.С., Митин Ю.А. Клиническая иммунология: руководство для врачей. СПб.: Питер 2001; 576.
6. Медуницин Н.В. Вакцинология. М. 2006; 448.
7. Ройт А., Бростофф Д., Мейл Д. Иммунология: пер. с англ. М.: Мир 2000; 592.
8. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Ярилин А.А. Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы: руководство для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа 2009; 352 с.
9. Николаенко В.Н. Сдвиги в системе иммунокомпетентных клеток у людей, иммунизированных различными вакцинными препаратами: дис. ... канд. мед. наук М. 1990; 179.
10. Шарыгин С.Л. Иммуноглобулины направленного действия для внутривенного введения. Вестник службы крови России 2003; 2: 53–55.
11. Cruse J.M., Levis R.E. Atlas of immunology. Taylor and Fransis Group. LLC 2010; 940.

Материал поступил в редакцию 16.05.2016