

УДК 619:616.98-07:612.017

ВДОСКОНАЛЕННЯ МЕТОДУ ОЦІНКИ ІНАКТИВОВАНИХ АНТИРАБІЧНИХ ВАКЦИН**НЕДОСЄКОВ В.В.**, д. вет. н., професор
НІКІТОВА А.П., аспірантНаціональний університет біоресурсів і
природокористування України, м. Київ
ms.mala@ua.ru

У статті представлені результати визначення імуногенної активності комерційних серій інактивованих антирабічних вакцин різними методами у порівняльному аспекті. Першим методом оцінки був класичний тест НІН, другим – вдосконалений нами «периферичний» тест НІН. В результаті проведених досліджень було показано високу ступінь кореляції між обома методами ($r = 0,9$). Однак, нами пропонується визначати імуногенність інактивованих антирабічних вакцин «периферичним» тестом НІН, оскільки він відтворює природні шляхи потрапляння антигену в організм

Імуногенна активність, метод НІН, інактивовані антирабічні вакцини, інфекційна активність, ступінь кореляції

Для проведення успішної імунопрофілактики сказу необхідні ефективні антирабічні вакцини, які за короткий час зможуть індукувати напружений і тривалий імунітет та володіти захисною здатністю при введенні їх тваринам. Контроль інактивованих антирабічних вакцин проводиться двічі: в «процесі виробництва» та визначення активності готових серій вакцини [1, 3, 4, 6, 7, 10].

Один із основних методів контролю вакцин, що вказує на її ефективність – імуногенна активність. Найбільш повну інформацію про активність вакцини отримують при випробуванні на цільових тваринах [1, 3]. Однак, дуже важко оцінювати імуногенність антирабічних вакцин на підставі імунізації у польових умовах, при яких відсутній необхідний контроль та неможливо враховувати всі численні, вельми мінливі фактори, які ускладнюють порівняння ступеню захисту вакцинованих тварин та оцінки ризику зараження. Крім того, готову серію вакцини необхідно оцінювати до того, як вона буде випущена для застосування в медичній чи ветеринарній практиці.

Відомий спосіб визначення імуногенної активності є метод НІН (National Institutes of Health), найбільш широко використовуваний і рекомендований ВООЗ. Даний тест був розроблений в США в 1953 р. і в незміненому вигляді використовується до цих пір. Методом НІН в Україні користується чимало лабораторій різного напрямку: виробничі лабораторії, біо-

логічні фабрики, лабораторії контролю, наукові лабораторії тощо. Однак, не дивлячись на таке широке використання цього тесту, рядом авторів відзначено певні недоліки постановки цього методу [5, 9, 11, 12], адже, інтрацеребральне зараження не відтворює природній шлях потрапляння вірусу в організм тварини, а сам тест передбачає 2 вакцинації з інтервалом в 7 діб, друга з яких є бустерною і може маскувати справжні результати тесту та завищувати результати у вакцин з низькою імуногенною активністю.

Саме тому, протягом останніх десятиліть ВООЗ широко досліджує різні модифікації даного тесту [2, 6-8], адже все перелічене може призводити до помилок в оцінці імуногенної активності інактивованих антирабічних вакцин.

Мета досліджень. Вдосконалити метод оцінки імуногенної активності інактивованих антирабічних вакцин шляхом розробки «периферичного» тесту.

Матеріали і методи: Антирабічні вакцини. Для постановки досліду з визначення імуногенності антирабічних вакцин використовували референс-вакцину антирабічну, інактивовану, що є галузевим стандартним зразком імуногенності антирабічної вакцини, відкалібрований щодо 4-го міжнародного стандарту.

Дослідними були комерційні серії інактивованих антирабічних вакцин (3 серії).

Тварини, імунізація та зараження. Для про-

ведення «периферичного» тесту використовували безпородних білих мишей чотирьохтижневого віку, масою 12-14 г. Тварини, по принципу аналогів, були поділені на 4 групи, кожна з яких складалася з 4-х підгруп (13 мишей в кожній).

Мишам, трьох груп, однократно вводили дослідні вакцини в дозі 0,15 см³. Для тварин кожної підгрупи використовували окреме розведення вакцини в фосфатно-буферному фізіологічному розчині: 1:5, 1:25, 1:125, 1:625. За аналогічною методикою імунізували тварин четвертої групи референс-вакциною.

На 21 добу, з моменту імунізації, мишей заражали в підшкірну клітковину верхньої губи фіксованим вірусом сказу, штаму «CVS». Доза зараження становила 10-50 ЛД₅₀ / 0,15 см³.

Інфекційна активність вірусу сказу, штаму CVS, при зараженні мишей в підшкірну клітковину верхньої губи нам була завідомо відома – $5,2 \pm 0,35$ Іг МЛД₅₀/см³.

Постановку класичного методу проводили відповідно методики [8].

Результати власних досліджень. Оскільки імунізацію тварин антирабічними вакцинами проводять за допомогою внутрішньом'язового введення препарату, а потрапляння вірусу в організм відбувається шляхом пошкодження шкірного покриву, нами було запропоновано для визначення імуногенної активності інактивованих антирабічних вакцин «периферичний» тест (вдосконалений метод

НІН).

За допомогою традиційного методу НІН та вдосконаленого «периферичного» тестунами було досліджено три серії інактивованих антирабічних вакцин з різною імуногенною активністю.

Результати проведеного нами дослідження представлені в таблиці 1.

Результати, наведені в таблиці, свідчать про завищення імуногенної активності усіх трьох серій інактивованих антирабічних вакцин, перевірених класичним методом. Особливу увагу привертає вакцина 1-ї серії, імуногенність якої становить 1,23 МО/дозі, в той час як при тестуванні за допомогою розробленого нами «периферичного» тесту її імуногенна активність становить 0,69 МО/дозі. Отже, можна стверджувати, що ця серія вакцини не може бути ліцензована та застосована для тварин, оскільки вона не відповідає вимогам ВООЗ (не менше, як 1 МО/дозі).

Наступний етап нашої роботи полягав в з'ясуванні кореляційної залежності між результатами отриманими за допомогою класичного методу НІН та вдосконаленим нами «периферичним» тестом (табл. 2).

Аналізуючи таблицю, відмічено, що коефіцієнт кореляції результатів, отриманих обома методами, знаходився на високому рівні. Це дозволяє використовувати розроблений нами «периферичний» тест для визначення імуногенної активності інактивованих антирабічних вакцин.

Таблиця 1. Результати порівняльного вивчення імуногенної активності інактивованих вакцин "периферичним" тестом і методом НІН

Серія вакцини	Тест НІН*		«Периферичний» тест*	
	IgEД ₅₀	Активність, МО/см ³	IgEД ₅₀	Активність, МО/см ³
1 серія	3,56	1,23	3,08	0,69
2 серія	3,24	0,58	2,95	0,51
3 серія	3,82	2,24	3,39	1,41
Референс-вакцина	3,47	1	3,24	1

Таблиця 2. Коефіцієнт кореляції(r) результатів визначення імуногенної активності інактивованих антирабічних вакцин, отриманих різними методами

Метод	Традиційний тест НІН	«Периферичний» тест
Традиційний тест НІН	1	0,90
«Периферичний» тест	0,90	1

Висновок. Результати, отримані при проведенні «периферичного» тесту та класичного методу НІН мали високий ступінь кореляції ($r=0,90$). Таким чином, вдосконалений нами метод оцінки імуногенної активності інак-

тивованих антирабічних вакцин рекомендується для використання при контролі їх якості, оскільки він моделює шляхи введення вакцини та природні умови потрапляння вірусу в організм.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гришок Л.П. Протективна активність антирабічних вакцин проти генетичних варіантів ізолятів вуличного вірусу сказу / Л.П. Гришок, М.Ю. Іванов, І.М. Полупан [та ін.] // Бюлетень ІВМУААН «Ветеринарна біотехнологія». – 2011. – № 18. – С. 55–59.
2. Комитет експертів ВОЗ по бешенству, 8 доклад (СТД 824) // ВОЗ – 1994. – 118 с.
3. Недосеков В.В. Методы тестирования инактивированных антирабических вакцин / В.В. Недосеков, И.Ф. Вишняков, К.Н. Груздев // Вопросы вирусологии. – 2001. – № 5. – С. 9 – 12.
4. Недосеков В.В. Разработка методов контроля антирабических инактивированных вакцин / В.В. Недосеков // Доклады РАСХН. – 2002. – № 5. – С. 48 – 50.
5. Effects of vaccine route and dosage on protection from rabies after intracerebral challenge in mice / P. Wunderli, D. Dreesen, T. Miller, G. Baer // AJVR. – 2003. – Vol 64. – No. 4. – P. 491 – 498.
6. Expert Committee on Biological Standardization. Technical Report Series 924 // WHO. – 2005. – 143 p.
7. Expert Consultation on Rabies. Technical Report Series 931 // WHO. – 2005. – 121 p.
8. Laboratory techniques in rabies 4-ed. Geneva. – 1996. – 476p.
9. Nedosekov V. Critical review of the NIH-method for testing potency of inactivated rabies vaccines / V. Nedosekov // Ветеринарна медицина України. – 2013. – №10. – С. 26 – 28.
10. Perrin P. Use of monoclonal antibody for quantitation of rabies vaccine glycoprotein by enzyme immunoassay / P. Perrin, P. Versmisse, P. Sureau // J. Biol. Stand. – 1985. – Vol. 13. – P. 295-301.
11. Rooijackers E. Development and evaluation of alternative testing methods for the in vivo NIH potency test used for the quality control of inactivated rabies vaccines / E. Rooijackers, J. Groen, J. Uittenbogaard [et al.] // Dev. Biol. Stand. – 1996. – Vol. 86. – P. 137 – 145.
12. Wunderli P. S. The rabies peripheral challenge test: more accurate determination of vaccine potency / P. S. Wunderli, D.W. Dreesen, T. J. Miller [et al.] // Vaccine. – 2006. – Vol. 24. – P. 7115 – 7123.

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДА ОЦЕНКИ ИНАКТИВИРОВАННЫХ АНТИРАБИЧЕСКИХ ВАКЦИН

Недосеков В.В., Никитова А. П.

В статье представлены результаты определения иммуногенной активности коммерческих серий инактивированных антирабических вакцин различными методами в сравнительном аспекте. Первым методом оценки был классический тест НИИ, вторым - усовершенствованный нами «периферический» тест НИИ. В результате проведенных исследований было показано высокую степень корреляции между обоими методами ($r = 0,9$). Однако, нами предлагается определять иммуногенность инактивированных антирабических вакцин «периферическим» тестом НИИ, поскольку он воспроизводит естественные пути попадания антигена в организм

Ключевые слова: иммуногенная активность, метод НИИ, инактивированные антирабические вакцины, инфекционная активность, степень корреляции

IMPROVING METHODS OF ESTIMATING THE INACTIVATED RABIES VACCINES

Nedosekov V., Nikitova A.

The article presents the results of determining the immunogenicity of a series of commercial inactivated rabies vaccines using different methods in a comparative perspective. The first was the classic method of assessing test NIH, the second - enhanced our "peripheral" test NIH. The studies have shown a high degree of correlation between the two methods ($r = 0,9$). However, we propose to determine the immunogenicity of inactivated rabies vaccines "peripheral" test NIH, since it reproduces the natural pathways of antigen into the body

Keywords: immunogenic activity method NIH, inactivated rabies vaccines, infectious activity, the degree of correlation
