

Иммуногенность современных вакцинных вирусов гриппа серотипа А(Н1N1)рdм09 по данным графического анализа

В.С. Вакин, О.С. Коншина (olga.konshina@influenza.spb.ru),
Е.М. Войцеховская (elenavoicex@mail.ru), Е.В. Кузнецова, В.Г. Майорова,
А.А. Васильева, И.Ю. Никоноров

ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России, г. Санкт-Петербург

Резюме

Задача исследования, результаты которого представлены в статье, состояла в оценке иммуногенной активности вируса А(Н1N1)рdм09 в составе современных тривакцин.

Иммуногенность вируса А(Н1N1)рdм09 в составе вакцин определяли методом графической интерпретации иммунного ответа у привитых. В результате исследований были выявлены различия в иммуногенной активности вируса, которые отражаются на титрах антител и кратностях их нарастания от 2 до 4 – 8 раз при применении близких по качеству вакцин. Эти изменения не могли наблюдаться при обычной форме учета иммунной реакции. Была обнаружена группа «молчащих» волонтеров (8%), не отвечающих на стимуляцию антигеном А(Н1N1)рdм09 при иммунизации вакциной с антигенной нагрузкой 5 мг. Увеличение дозы вируса А(Н1N1)рdм09 до 15 мг в сплит-вакцине приводило к устранению группы «молчащих» волонтеров. Одновременно наблюдали значительное (до 32-х раз) усиление иммунного ответа по титрам сывороток и кратностям нарастания антител. Таким образом, использование графической формы учета позволило лучше оценить тонкости формирования коллективного иммунитета к вирусу А(Н1N1)рdм09 и характер его отклонений в ряде случаев.

Ключевые слова: графики, гриппозная вакцина, иммунитет

Immunogenicity of Modern Vaccine Viruses of Influenza A (H1N1)pdm09 According to Graphical Analysis

V.S. Vakin, O.S. Konshina (olga.konshina@influenza.spb.ru), E.M. Wojciechowska (elenavoicex@mail.ru), E.V. Kuznetsova,
V.G. Mayorova, A.A. Vasilyeva, I.Yu. Nikonorov

The Federal State Budgetary Institution «Research Influenza Institute» of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint-Petersburg

Abstract

Antiepidemic measures were limited effectiveness for several years. Objectives of this research were formulated as an assessment of the immunogenicity activity of the influenza virus A(H1N1)pdm09 in the composition of modern trivaccines

Immunogenicity of the influenza virus A(H1N1)pdm09 in the vaccinated by vaccine was assessed by graphing, reflecting the dynamics of the multiplicity growth of antibodies (MG) and medium ratio of antibodies increasing (MR) in sera for several groups vaccinated. For comparison of vaccinated immunity was determined by traditional methods of evaluation of the immune response.

As a result of the research, differences in the immunogenicity activity of the virus were revealed, which are reflected in antibody titers and the multiplicities of their growth from 2 to 4 – 8 times with the applying of similar quality vaccines. These changes couldn't be observed with accounting study of the immune response. When immunized with a vaccine with an antigen dose of 5 mg HA identified a group of «silent» volunteers (8%) who did not respond to promotion with antigen A(H1N1)pdm09.

Increasing dose of the influenza virus A(H1N1)pdm09 to 15 mg/dose in the split vaccine were result of the elimination of the group of «silent» volunteers. Simultaneously was observed a significant increase in the immune response in serum titers (up to 32-fold) and antibody growth rates. Accordingly, using of the graphical form of accounting made it possible to better assess the details of the formation of collective immunity to the virus A(H1N1)pdm09 and the nature of its deviations in a number of cases.

Key words: graphs, influenza vaccine, immunity

Введение

Длительная циркуляция пандемического вируса А(Н1N1)рdм09 на территории Российской Федерации (в течение семи лет) должна была серьезно повлиять на иммунный статус населения в отношении этого возбудителя. Однако исследования показывают, что во многих регионах страны население остается уязвимыми к гриппу, вызванному пандемическим вирусом. Результат

анализа заболеваемости гриппом в 2016 г. указывает на то, что эпидсезон 2015 – 2016 гг. был моноэтиологичным (вирус гриппа А(Н1N1)рdм09), отмечалось одновременное наступление пика заболеваемости во всех возрастных группах с широким вовлечением взрослого населения и школьников [1].

Таким образом, вакцинация остается главным препятствием на пути последующих эпидемий гриппа.

Начиная с 2009 – 2010 гг., аналоги пандемического вируса с антигенной структурой A(H1N1)pdm09 входят в состав всех современных противогриппозных вакцин, используемых в Российской Федерации для вакцинации населения, а их иммуногенность неизменно соответствует рекомендациям ВОЗ и критериям вакцинальной практики России. В связи с этим вопрос, насколько современные вакцины, содержащие антигенный компонент A(H1N1)pdm09, способствуют формированию коллективного иммунитета к пандемическому вирусу гриппа и в какой степени реализуется иммуногенный потенциал самого вируса A(H1N1)pdm09 остаётся весьма актуальным.

В качестве инструмента исследования нами была предложена форма представления и сравнения иммуногенной активности вируса в виде графика или графиков иммуногенности [2]. Этот прием дает возможность в динамике наблюдать становление гуморального иммунитета не только у серонегативной части привитых, но и у лиц с наличием антител к вирусам гриппа.

Сравнение вакцин, произведенных разными способами, но содержащих одинаковую антигенную структуру A(H1N1)pdm09, позволяет лучше оценить их качество и защитные свойства в отношении пандемического вируса гриппа.

Цель данной работы – графическое представление формирования иммунного статуса у привитых современными отечественными тривакцинами, содержащими одинаковый штамм вируса гриппа A(H1N1)pdm09.

Материалы и методы

1. Вакцины

Изучались первичные протоколы испытаний иммуногенной активности тривакцин: I, II.

- I вакцина, гриппозная инактивированная субъединичная, содержащая по 5 мкг гемагглютинина двух эпидемических штаммов вирусов гриппа типов A(H1N1)pdm09, A(H3N2), 11 мкг штамма В и 500 мкг адьюванта Совидон в дозе 0,5 мл, зарегистрирована в РФ 13.09.12, регистрационное удостоверение: №: ЛП-001836.
- II вакцина, гриппозная инактивированная, расщепленная, содержащая по 15 мкг гемагглютинина каждого из трех эпидемических штаммов вирусов гриппа типов A(H1N1)pdm09, A(H3N2) и В в дозе 0,5 мл, зарегистрирована в РФ 18.12.12, регистрационное удостоверение: ЛСР-001419/08.

Все тривакцины содержат одинаковые штаммы вируса гриппа, рекомендованные ВОЗ на сезон 2015 – 2016 гг.

2. Вирусы

Сравнивались иммуногенные свойства вируса А/Калифорния/07/09 (H1N1)pdm09 в составе двух тривакцин.

3. Группы привитых волонтеров

После иммунизации, по данным первичных протоколов определения иммуногенной активности вирусов в составе тривакцин I и II, были сформированы внутренние группы привитых волонтеров по критерию исходного уровня антител (АТ). Это оказалось возможным в связи с тем, что вакцинировались люди с различным уровнем антител в крови.

Были сформированы следующие группы привитых с исходным уровнем антител к вирусу A(H1N1)pdm09:

1. 1:5 – серонегативные;
2. 1:10 – низкий уровень антител;
3. 1:20 – умеренный уровень антител;
4. 1:40 – условно защитный уровень антител;
5. 1:80 – высокий уровень антител;
6. 1:160 – высокий уровень антител;
7. $\geq 1:320$ – высокий уровень антител.

Для групп привитых строился общий график иммуногенности и вычислялась средняя кратность прироста антител (СКрП).

4. Методы формирования таблиц и построения графиков

Для кумуляции данных были сформированы таблицы с показателями кратности нарастания антител (КрН) от 1 (отсутствие прироста антител) до максимального уровня в протоколе и СКрП в расчете на одну сыворотку. СКрП – частное от деления суммарной кратности нарастания АТ на число сывороток. Средняя кратность прироста в расчете на одну сыворотку представляет прирост АТ количественно характеризующий иммунный процесс для данной группы привитых [2].

График иммуногенности строится по показателям КрН, т.к. процент сывороток с одинаковой КрН антител в группах привитых позволяет судить об интенсивности иммунного процесса.

Для этого на оси ординат (у) откладываются значения процентов (%) содержания сывороток с кратностью нарастания антител от 1 до максимально достигнутых в данной группе привитых. По оси абсцисс (х) откладываются значения КрН антител, имеющиеся в группе вакцинированных.

5. Определение иммуногенной активности вакцинных штаммов

Оценку иммуногенной активности вирусов в составе тривакцин проводили в соответствии с критериями СРМР [3] и приказом Минздрава России от 19.06.2003 г. №266 «Правила клинической практики в Российской Федерации» [4]. Общие сведения по иммуногенной активности тривакцин относительно антигена A(H1N1)pdm09 представлены в таблице 1. Данные в таблице соответствуют протоколу № 1 версия от 28.01.2016 г. Иммуногенную активность применяемых вакцин оценивали, исследуя сыворотки крови добровольцев, взятые до вакцинации и на 28 день после иммунизации, в реакции торможения гемагглютинации (РТГА).

Таблица 1.
Иммуногенность вакцин I и II (для антигена A(H1N1)pdm09)

Вакцины	Число обследованных	% лиц с 4- кратными сероконверсиями		Число лиц с серопротекцией		Кратность прироста титров антител
			p		p	
I	100	88,3		90,0	≤ 0,05	8,92
II	100	96,2	≤ 0,05	98,11	≤ 0,05	14,92
Критерии СРМР		≥40		> 70%		>2,5

В соответствии с данными протоколов иммуногенная активность указанных вакцин соответствует международным нормам.

6. Методы статистики

В работе применяли методы статистической оценки результатов [5], относящиеся к расчетам средних величин и достоверности отдельных показателей. Последнее достигалось применением t-критерия Стьюдента, как для отдельных показателей, так и для оценки достоверности различий между альтернативными признаками. В этом случае использовали формулу:

$$t = \frac{p - q}{m_1 - m_2}, \text{ где}$$

m_1 и m_2 – средние ошибки,
 p и q – альтернативные признаки,
 t – критерий Стьюдента.

Результаты и обсуждение

В соответствии с методикой [2] составления таблиц для графиков иммуногенности в таблицу собраны данные первичных протоколов испытаний иммуногенной активности тривакцины I.

По данным значения КрН, представленным в таблице 2, составлен график 1 иммуногенности вируса A/H1N1pdm09 в составе тривакцины I (рис. 1)

На графике 1. видно, что 8% привитых не ответили на иммунизацию вирусом A(H1N1)pdm09 в вакцине I, и большая часть ранжированных иммунных сывороток находится в диапазоне с КрН от 2-х (13%) до 32-х (10%). Суммарно у 48% волонтеров нарастание (увеличение) титров составило от 4-х (23%) до 8 (25%) раз, что и формирует основной пул защитных антител. Показатель СКрП, как и следовало ожидать, был наибольшим в серонегативной группе с исходным титром 1:5 (54,2) и резко снижался в группах с титрами 1:10 (12,4) и 1:20 (15,3). Подобное снижение этого показателя в серонегативных группах может указывать на недостаточную иммуногенность вакцины I, что требует отдельного исследования.

По аналогии с построением графика иммуногенности вируса A(H1N1)pdm09 в вакцине I была сформирована таблица 3, в которой аккумулировались данные КрН и СКрП для вируса A(H1N1)pdm09 в вакцине II.

По данным таблицы 3 был построен график 2 (рис. 1) иммуногенности вируса A(H1N1)pdm09, характерный для вакцины II, в состав которой он входил как антиген.

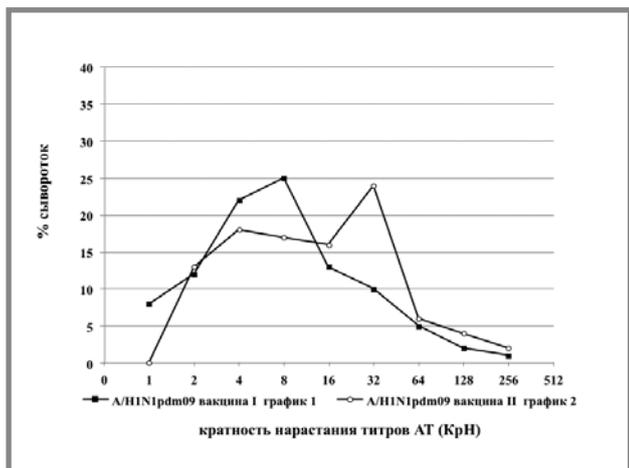
Форма графика 2 значительно отличается от графика 1 и несет совершенно иное содержание. Так, на графике 2 целиком исчезла группа «молчащих» волонтеров. Общий пул участвующих в иммунном процессе сывороток достиг 88%, причем кратности нарастания антител увеличились с 2-х до 32-х раз.

Таблица 2.
Показатели КрН и СКрП в группах волонтеров, иммунизированных вакциной I (антиген A(H1N1)pdm09)

№ группы	Исходный титр АТ до вакцинации	Число привитых	% сывороток с указанной КрН в группе										СКрП	Log2 СКрП
			1	2	4	8	16	32	64	128	256			
1	1:5	16	1	2	–	2	3	3	3	2	1	54,2	5,7	
2	1:10	20	–	2	3	9	4	1	1	–	–	12,4	3,6	
3	1:20	24	1	1	5	9	1	6	1	–	–	15,3	3,9	
4	1:40	29	2	7	11	4	5	–	–	–	–	5,9	2,6	
5	1:80	7	2	1	3	1	–	–	–	–	–	3,4	1,8	
6	1:160*	2	2	–	–	–	–	–	–	–	–	2,0	1,0	
7	1:320	2	–	1	1	–	–	–	–	–	–			

Примечание: * Группы 6 и 7 объединены.

Рисунок 1.
Графики иммуногенности вакцин I и II
(антиген A(H1N1)pdm09)



СКрП в серонегативной группе достигла 88,7, а сам показатель прироста антител прослеживается до 3 – 4-й групп, что свидетельствует о высоком иммуногеном потенциале вакцины.

Анализ графиков иммуногенности вируса A(H1N1)pdm09 в разных вакцинах позволяет выделить ряд особенностей становления коллективного иммунитета, незаметных при других формах учета иммунной реакции. В первую очередь на графиках видна разная вовлеченность привитых в иммунный процесс. При вакцинации субъединичной вакциной I выявилась группа «молчащих» волонтеров (8%), не ответивших на вакцинацию.

Так как основную часть антител представляет антигемагглютинин, то, возможно, концентрации антигена (5 мг НА на дозу) в вакцине I оказалась недостаточной для инициации иммунного ответа для этой части привитых. Иначе выглядит график иммуногенности вируса A(H1N1)pdm09 в вакцине II, где содержание гемагглютинаина в три раза превосходит его количество в вакцине I. Массированное взаимодействие антигена вируса

A(H1N1)pdm09 и механизмов гуморального звена иммунитета, в частности активация Th-2, привело к уникальному иммунному ответу. На графике 2 видно формирование в значительном проценте случаев высокотитражных сывороток с КрН в 4 раза превышающем КрН у вакцины I (рис. 1, график 1). Эти данные подтверждаются тем, что высокие защитные титры противогриппозных антител на графике 2 соответствуют в таблице 1 самому большому уровню (98%) сероконверсий и серопротекций среди сравниваемых вакцин.

Самый большой показатель СКрП в серонегативной группе относится к привитым вакциной II. Влияние A(H1N1)pdm09 антигена на прирост антител в других таких же группах вакцинированных примерно в два раза меньше и быстро исчезает в группах с увеличивающимся количеством исходных антител. При иммунизации вакциной II процесс нарастания антител просматривается до группы с титром 1:40, что также может быть следствием большей антигенной нагрузки.

Таким образом, сравнение данных таблицы 1 и графиков иммуногенности на рисунке 1 дают возможность оценить процесс формирования иммунитета с двух сторон. Результаты таблицы дают общее законченное представление об иммунном процессе в данном коллективе и достигнутом уровне гуморального иммунитета у вакцинированных.

С другой стороны график иммуногенности позволяет видеть процесс антителообразования в динамике, а показатели СКрП оценить возможность вакцинных штаммов преодолевать существующий уровень противовирусных антител. Это свойство в конечном итоге может стать решающим при подготовке вакцинного штамма как иммуногена для иммунизации людей.

Выводы

1. Построение графиков иммуногенности позволяет с количественной и качественной сторон

Таблица 3.
Показатели КрН и СКрП в группе волонтеров, иммунизированных вирусом A/H1N1pdm09 в составе вакцины I

№ группы	Исходный титр АТ	Число привитых	% сывороток с указанной КрН в группе									СКрП	Log2 СКрП
			1	2	4	8	16	32	64	128	256		
1	1:5	13	–	1	–	–	4	2	–	4	2	88,7	6,5
2	1:10	14	–	–	3	1	2	3	5	–	–	33,4	5,1
3	1:20	26	–	1	4	7	4	9	1	–	–	18,8	4,2
4	1:40	32	–	5	6	5	6	10	–	–	–	15,3	3,9
5	1:80	13	–	5	4	4	–	–	–	–	–	4,5	2,2
6	1:160*	2	–	1	1	–	–	–	–	–	–	3	1,6

Примечание: *Группы 6 и 7 объединены.

- оценить иммуногенность вакцинных штаммов вируса гриппа.
- Иммуногенность вакцинного штамма вируса A(H1N1)pdm09 неодинакова в исследуемых тривакцинах I и II.
 - При иммунизации субъединичной вакциной, содержащей 5 мг на дозу HA A(H1N1)pdm09, была выявлена группа волонтеров (8%) не ответивших на прививку выработкой антител.
 - Увеличение дозы антигена A(H1N1)pdm09 до 15 мг усиливало иммунный ответ по кратности нарастания антител от 4-х до 16-ти раз при вакцинации волонтеров сплит-вакциной.
 - Средняя кратность прироста антител (СКрП) была наибольшей при вакцинации сплит-вакциной с максимальной антигенной нагрузкой. Прирост антител в группах в этом случае прослеживался до группы с титром 1:40. ■

Литература

- Карпова Л.С., Поповцева Н.М., Столярова Т.П., Столяров К.А., Соминина А.А., Бурцева Е.И. Анализ эпидемии гриппа 2016 года и пандемии 2009 года по материалам двух Национальных центров ВОЗ в Российской Федерации. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2016; 4 (89): 4 – 12.
- Вакин В.С., Войцеховская Е.М., Васильева А.А., Кузнецова Е.В., Коншина О.С., Лонская Н.И. Графическое отображение иммуногенной активности вакцинных штаммов вирусов гриппа. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2014; 3 (76): 99 – 110.
- Приказ Минздрава РФ №266 от 19.06.2003 г. «Правила клинической практики в Российской Федерации». Доступно на: <http://rudocor.net/medicine/bz-bw/med-amjyp.htm>.
- Шляхов Э.Н. Практическая эпидемиология. Кишинев: Штиинца; 1986.
- Concept Paper on the Revision of Guidelines for Influenza Vaccines. 22 September 2011 EMA/CHMP/VWP/734330/2011 Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Доступно на: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2011/10/WC500115612.pdf

References

- Karpova L.S., Popovtseva N.M., Stolyarova T.P., Stolyarov K.A., Sominina A.A., Burtseva E.I. Analysis of the Influenza Epidemic in 2016 and Pandemic in 2009 Based on Two National Centers of WHO in the Russian Federation. *Epidemiologia i Vaccinoprofilactica [Epidemiology and Vaccine Prevention]*. 2016; 4 (89): 4 – 12 (in Russian).
- Vakin V.S., Voytsehovskaya E.M., Vasileva A.A., Kuznetsova E.V., Konshina O.S., Lonskaya N.I. Graphical Display of the Differences in Immunogenicity of Viruses – Components of Contemporary Influenza Vaccines. *Epidemiologia i Vaccinoprofilactica [Epidemiology and Vaccine Prevention]*. 2014; 3 (76): 99 – 110 (in Russian).
- Available at: <http://rudocor.net/medicine/bz-bw/med-amjyp.htm>.
- Shlyahov E.N., *Praktical epidemiology*. Kishinev; Shtiinca; 1986 (in Russian).
- Concept Paper on the Revision of Guidelines for Influenza Vaccines. 22 September 2011 EMA/CHMP/VWP/734330/2011 Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2011/10/WC500115612.pdf.

ИНФОРМАЦИЯ ВОЗ

Вакцинация против дифтерии

В Еженедельной эпидемиологической сводке (бюллетене) № 31 ВОЗ представила позицию в отношении дифтерии, одобренную Стратегической консультативной группой экспертов ВОЗ по иммунизации. В документе (аналогичный был выпущен в 2006 г.) указывается, что дифтерия остается актуальной проблемой для стран, не обеспечивающих надлежащий охват населения прививками. К их числу относятся страны Юго-Восточной Азии (Индия, Индонезия, Мадагаскар), а также Африканско- и Восточно-Средиземноморского регионов.

ВОЗ отмечает в этом документе, что каждая страна должна обеспечить своевременную полноценную вакцинацию и ревакцинацию всего населения против дифтерии.

Для вакцинации младенцев следует использовать как АКДС, так и АаКДС вакцины, последняя может содержать и другие антигены. Курс вакцинации включает 3 прививки. Первую прививку про-

водят не ранее шестинедельного возраста. Последующие прививки с интервалом не менее четырех недель. Третью дозу вакцины желательно ввести не позже 6-ти месячного возраста. Ревакцинацию проводят в возрасте 12 – 24 мес., 4 – 7 и 9 – 15 лет.

Национальными схемами вакцинации могут быть предусмотрены дополнительные введения препарата. Содержание дифтерийного анатоксина в прививочной дозе для детей до 6 лет не должно быть меньше 30 МЕ. Иммунизацию детей старшего возраста и взрослых осуществляют препаратами с уменьшенным содержанием дифтерийного анатоксина.

(Российские рекомендации по вакцинации против дифтерии соответствуют ВОЗовским).

Источник: *Weekly Epidemiological Record* № 31. 2017; 92: 417 – 436.

Подготовил; Н.А. Озерецковский