

Anna Gzyl, Grzegorz Gniadek, Ewa Augustynowicz, Daniel Rabczenko, Barbara Husejnow,
Monika Zawadka, Janusz Ślusarczyk*

WZROST ZACHOROWAŃ NA KRZTUSIEC A WYNIKI ANALIZY JAKOŚCI KOMPONENTU KRZTUŚCOWEGO POLSKIEJ SZCZEPIONKI DTP. CZEŚĆ I: MOC SZCZEPIONKI DTP

Zakład Badania Surowic i Szczepionek PZH

Kierownik: Janusz Ślusarczyk,

*Zakład Statystyki Medycznej PZH

Kierownik: Paweł Goryński

Przeprowadzone badania miały na celu identyfikację oraz określenie wahań wartości mocy komponentu krztuścowego serii szczepionek DTwP w zależności od zmian wprowadzanych do technologii produkcji oraz badań kontrolnych. Na wartość mocy szczepionki DTwP miały wpływ pochodzenie serii, skład szczepów produkcyjnych, seria preparatu odwoławczego oraz pochodzenie zwierząt doświadczalnych stosowanych do badań kontrolnych. Wykazano spadek mocy komponentu krztuścowego serii DTwP wyprodukowanych w latach 1992-1999, powiązany z obniżeniem liczby bakterii wyrażonych w jednostkach gęstości optycznej na pojedynczą dawkę ludzką.

Słowa kluczowe: krztusiec, moc szczepionki, test Kendrick

Key words: pertussis, vaccine potency, Kendrick test

WSTĘP

Po wprowadzeniu w Polsce obowiązkowych szczepień pełnokomórkową szczepionką krztuścową (wP-whole cell pertussis) skojarzoną z czynnikiem błoniczym i tężcowym (DTP) w 1960 roku nastąpił gwałtowny spadek liczby zachorowań na krztusiec. W latach 1982-1992 osiągnięto prawie 100% spadek średniej zapadalności/100 000 mieszkańców w stosunku do okresu 1950-1960 (0,84 vs. 978) (1). Pomimo utrzymywanego przez wiele lat wysokiego poziomu zaszczepienia szczepionką DTP rzędu ~ 98%, zapadalność na krztusiec w Polsce w latach 1997 i 1998 nieoczekiwanie wzrosła do poziomu obserwowanego w latach 70-tych (5,41 i 7,43) (2-5). W wielu krajach wzrost zachorowań na krztusiec został bezpośrednio powiązany z całkowitym lub czasowym usunięciem szczepień DTP z obowiązujących kalendarzy szczepień spowodowanym obawami występowania miejscowych i uogólnionych odczynów poszczepiennych (2,6). Z kolei w innych krajach, szczególnie w tych o wysokim poziomie zaszczepienia populacji utrzymywanym przez wiele

lat, wzrost zachorowań trudno było bezpośrednio powiązać z określonym czynnikiem (7-9). Wśród wielu możliwych przyczyn wymienia się zmiany wprowadzone do systemu nadzoru szczepień obowiązującego w danym kraju oraz w diagnostyce. Dodatkowo, wzrost zachorowań może być powiązany z obniżeniem się poziomu zaszczepienia populacji, obniżeniem się odporności poszczepiennej, pojawieniem się szczepów odpornych na działanie szczepienia (*escape mutants*) oraz ze spadkiem skuteczności stosowanej szczepionki (10-20).

W prezentowanej pracy podjęto próbę wyjaśnienia, czy skuteczność szczepionki DTwP stosowanej do masowych szczepień w Polsce spadła, czego bezpośrednim skutkiem mógł być obserwowany wzrost zachorowań na krztusiec. Do zwalniania do obrotu poszczególnych serii szczepionek DTwP rutynowo stosowany jest zalecany przez Światową Organizację Zdrowia (ŚOZ) oraz Farmakopeę Europejską (FE) czynny domózgowy test przeprowadzany na myszach białych (test Kendrick), którego wyniki bezpośrednio korelują ze skutecznością wP ocenianą w badaniach terenowych u ludzi (21,22).

Z tych względów w prezentowanej pracy przeprowadzono retrospektywną analizę wyników testu Kendrick dla poszczególnych serii szczepionki DTwP wyprodukowanych oraz stosowanych do masowych szczepień w Polsce od 1972 roku. Badania miały na celu określenie, czy w okresie ostatnich 30 lat średnia wartość uodparniająca komponentu wP spadła, względnie wzrosła oraz zidentyfikowanie tych parametrów, które mogą być odpowiedzialne za powstałe zmiany.

MATERIAŁ I METODY

Test Kendrick. Celem badania jest określenie, czy szczepionka DTwP jest zdolna do wywołania ochronnej odpowiedzi immunologicznej, która jest w stanie zabezpieczyć myszy białe przed czynnym domózgowym zakażeniem *B. pertussis*. Badanie przeprowadza się zgodnie z zaleceniami FE oraz ŚOZ (21, 22, 23). Ochronna aktywność szczepionki jest obliczana przez porównanie ED_{50} szczepionki badanej z ED_{50} szczepionki referencyjnej i wyrażana w jednostkach międzynarodowych (IU – International Units). ED_{50} – jest to taka ilość szczepionki, wyrażona w jednostkach objętościowych, która chroni 50% myszy przed określoną dawką zakażającą (100-1000 LD_{50}) hodowli *B. pertussis* podanej drogą domózgową. Szczepionka spełnia wymogi, jeżeli jej moc w pojedynczej dawce szczepiennej nie jest niższa niż 4 IU (11,21).

Dane retrospektywne. Do badań włączono oznaczenia mocy komponentu krztuścowego 254 serii szczepionki DTwP produkowanej w Polsce w latach 1972-2001, które były dostępne w archiwum Zakładu Badania Surowic i Szczepionek (ZBSS) powołanego do Państwowej Kontroli Biopreparatów. Oznaczenia mocy wP poszczególnych serii DTwP analizowano pod względem zmian producenta (zmiany składu szczepów produkcyjnych, objętości pojedynczej dawki ludzkiej – SHD-Single Human Dose, źródła adiuwantu) oraz zmian wprowadzonych do badań kontrolnych w teście Kendrick (seria preparatu odwoławczego, źródło szczepu myszy) (tabela I). Serie szczepionki zwolnione do obrotu w latach 1973-1988 oraz 1973-2001 zostały wyprodukowane odpowiednio przez Warszawską oraz Krakowską Wytwórnę Surowic i Szczepionek (WWSS i KWSS). W dwóch okresach (1973-1977 oraz 1978-2001) komponenty krztuścowe analizowanych serii szczepionek DTwP produkowane były w oparciu o dwa różne zestawy szczepów pro-

Tabela I. Charakterystyka badanych zmiennych w analizach mocy komponentu wP szczepionki DTwP

Table I. Factors used as variables in potency analyses of the pertussis component of the DTwP vaccine

Liczba serii	Zmienna testu Kendrick/technologii produkcji	Liczba serii	Okres		
				WWSS	KWSS
251	Warszawa	65	1973-1988		
	Kraków	186	1973-2001		
252	Skład szczepów D	69	1973-1977	30	39
	Skład szczepów E	183	1978-2001	35	147
252	Wzorzec roboczy (Per 9)	36	1972-1975	12	24
	Wzorzec roboczy (Per 10)	25	1975-1977	15	10
	Wzorzec roboczy (Per 11)	124	1977-1988	37	86
	Wzorzec roboczy (Per 12)	67	1988-2001	1	66
252	Pzh:SfiS (prywatny wytwórca)	77	1973-1978	31	46
	Pzh:SfiS NIH (PZH)	175	1978-2001	34	140
254	SHD: 1.0 ml	216	1973-1993	65	150
	SHD: 0,5 ml	36	1993-2001	0	36
252	Źródło adiuwantu I	216	1973-1993	65	150
	Źródło adiuwantu II	36	1993-2001	0	36

Tabela II. Jednorodne okresy produkcji oraz kontroli mocy komponentu wP w analizach jakości wyników na wykresach Shewhart'a

Table II. Periods of similar wP production and control used for Shewhart charts construction

Nr okresu	Liczba serii ogółem/ KWSS	Okres	Zmienna	Wykresy Shewhart'a			
				KWSS	WWSS	ED ₅₀	(b)
I	36/24	1973-1975	D, Per9, Mysz1, SHD-1 ml	+(24)	-(12)	+(34)	-
II	25/10	1975-1977	D, Per10, Mysz1, SHD-1 ml	-(10)	-(15)	+(25)	-
III	8/5	1977-1977	D, Per11, Mysz1, SHD-1 ml	-(5)	-(3)	-(15)	-
IV	7/6	1978-1978	E, Per11, Mysz1, SHD-1 ml	-(6)	-(1)		
V	110/76	1978-1988	E, Per11, Mysz2, SHD-1 ml	+(76)	+(34)	+(100)	-
VI	29/28	1988-1992	E, Per12, Mysz2, SHD-1 ml, A1-1	+(28)	-(1)	+(53)	+(63)
VII	37/37	1993-2001	E, Per12, Mysz2, SHD-0.5 ml, A1-2	+(37)			

Oznaczenia:

Mysz1/2 – pochodzenie szczepu zwierząt eksperymentalnych

A1-1/A1-2 – źródło adiuwantu

dukcyjnych (D i E). W przypadku KWSS zmiany dotyczyły również objętości SHD (1.0 ml/0.5 ml) w 1992 roku oraz źródła adiuwantu (produkcji KWSS oraz dostępny komercyjnie) w 1993 roku.

Serie krajowego preparatu odwoławczego Per9, Per10, Per11, oraz Per12 były stosowane do oznaczeń mocy wP odpowiednio w latach 1972-1975, 1975-1977, 1977-1988, oraz 1988-2001. W latach 1972-1978 do testów Kendrick stosowano zwierzęta szczepu Pzh:SfiS pochodzące z hodowli prywatnej, natomiast po 1978 roku myszy tego szczepu pochodziły z Hodowli PZH.

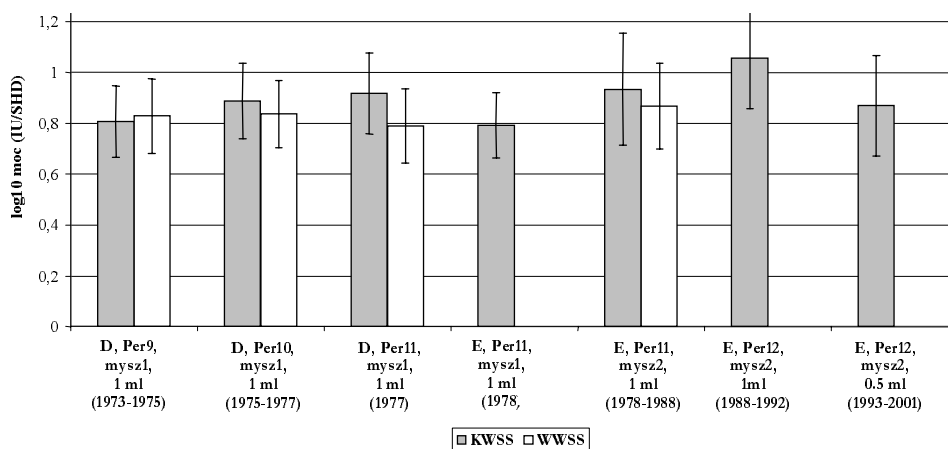
Dodatkowo wyniki mocy komponentu krztuścowego serii szczepionki DTwP podzielono na siedem (I do VII) okresów, w których stosowano jednorodne parametry produkcji (skład szczepów produkcyjnych, objętość SHD) oraz badań kontrolnych (seria preparatu odwoławczego, źródło zwierząt eksperymentalnych) (tabela II).

A n a l i z a s t a t y s t y c z n a. Różnice w logarytmowanej \log_{10} wartości mocy porównywano przy zastosowaniu t-testu lub testu Wilcoxon'a w zależności od rozkładu normalności danych. Test Kruskala-Wallis'a zastosowano do porównań wartości oznaczeń mocy komponentu krztuścowego serii szczepionek DTwP oraz oznaczeń mocy wP serii szczepionek DTwP, oznaczanych wobec poszczególnych serii preparatu odwoławczego (Per). Korelację pomiędzy wartościami mocy wP oraz zawartości IOU/dawkę (w zakresie 10-20 IOU) oznaczono za pomocą współczynnika korelacji Spearman'a dla 55 serii szczepionek DTwP wyprodukowanych w latach 1991-2001. Uśrednione wartości \log_{10} oznaczeń mocy wobec czynników podlegających zmianom, uwzględnionych w analizie, przedstawiono w tabeli I (24,25). Korelację wyników mocy wP otrzymanych w testach Kendrick w ZBSS oraz KWSS dla 53 serii szczepionek DTwP w okresie 1993-2001 oceniano przy zastosowaniu współczynnika korelacji Spearman'a (ρ). Analizy statystyczne wykonano przy zastosowaniu oprogramowania S-PLUS (S-PLUS 2000 Analysis Products Division, MathSoft, Seattle, WA).

WYNIKI

Analizowano dostępne wyniki mocy komponentu krztuścowego serii szczepionek DTwP wyprodukowanych przez WWSS i KWSS odpowiednio w okresach 1973-1990 oraz 1973-2001. Uśrednione wartości \log_{10} mocy serii szczepionek produkcji WWSS i KWSS uzyskane w tym samym okresie, kiedy WWSS oraz KWSS równolegle produkowały szczepionkę w oparciu o podobną technologię produkcji w latach 1972-1990, były podobne (p -value=0.51). Uśrednione wartości \log_{10} mocy wP serii DTP produkcji KWSS po 1990 roku były statystycznie znamienne wyższe w stosunku do wartości otrzymanej dla serii wyprodukowanych przed rokiem 1990 (p -value 0.001). Dla wszystkich analizowanych serii DTwP niezależnie od producenta oraz dla serii DTwP, produkcji KWSS, uśrednione wartości \log_{10} mocy otrzymane dla komponentu krztuścowego o składzie szczepów produkcyjnych E były znamienne wyższe od wartości otrzymanych dla wP wyprodukowanych w oparciu o skład typu D (odpowiednio p -value 0.001 i 0.02). Średnie wartości \log_{10} mocy otrzymane dla komponentów krztuścowych o składzie szczepów produkcyjnych D i E serii szczepionek DTwP produkcji WWSS nie różniły się (p -value=0.34).

Zmiana objętości SHD szczepionki DTwP z 1 ml na 0.5 ml wprowadzona w 1992 roku nie miała wpływu na znamienność różnic w średnich wartościach \log_{10} mocy komponentu



Ryc. 1. Moc komponentu krztuścowego (IU/dawkę) a liczba bakterii (IOU)/dawkę szczepionki DTwP produkcji KWSS

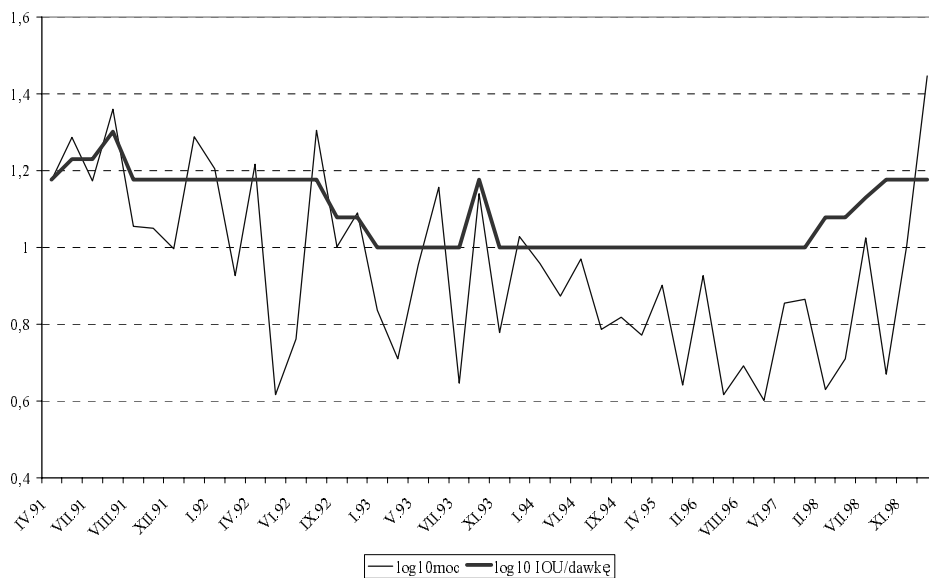
Fig. 1. Pertussis potency (IU/dose) and number of bacteria (IOU/dose) in DTwP lots produced by KWSS

tów wP (p -value=0.12). Podobnie, brak znamiennej zależności wykazano dla wprowadzonej w 1993 roku przez KWSS zmiany źródła adiuwantu z produkowanego na miejscu na dostępnym komercyjnie (p -value=0.12).

Obniżenie liczby komórek bakterii (IOU) w SHD zostało skorelowane z obniżeniem się wartości \log_{10} mocy wP serii DTwP produkcji KWSS (p -value=0.001, ρ =0.46). Wykres wartości \log_{10} mocy wP w zależności od zastosowanej liczby IOU/dawkę w odpowiednich seriach DTwP produkcji KWSS przedstawia trend spadkowy mocy w latach 1992-1998 (ryc. 1).

W analizowanym okresie, do testów Kendrick stosowano cztery różne serie preparatu odwoławczego, kalibrowanego w stosunku do standardu międzynarodowego. Uśredniona wartość \log_{10} mocy wP serii DTwP, niezależnie od producenta, oceniana wobec preparatu odwoławczego, Per9 (1972-1975), była znamiennej niższa niż średnie otrzymane dla \log_{10} wartości mocy wP serii DTwP ocenianych wobec Per10, Per11 i Per12, czyli stosowanych do badań odpowiednio w latach 1975-1977, 1977-1988 i 1988-2001 (p =0.008). Podobną statystycznie znamiennej zależność wykazano dla serii produkcji KWSS (p -value 0.02), lecz nie dla WWSS. W przypadku WWSS obserwowany był wprawdzie stopniowy, lecz niewykazujący cech znamiennej, wzrost wartości \log_{10} mocy wP serii DTwP ocenianych wobec preparatów odwoławczych Per9, Per10 i Per11 (p -value= 0.05). Statystycznie znamiennej wyższą średnią wartości \log_{10} mocy wP otrzymano dla serii DTwP, ocenianych w testach Kendrick w okresie stosowania preparatów odwoławczych Per9+Per10 (1972-1977) w porównaniu do okresu Per11+Per12 (1977-2001), niezależnie od wytwórcy oraz swoście dla KWSS (p -value <0.0001 i p -value=0.001). W przypadku WWSS średnie wartości \log_{10} mocy wP serii DTwP ocenianych wobec Per9+Per10 oraz Per11 nie różniły się (p -value=0.33).

Zmiana źródła zwierząt eksperymentalnych Pzh:SfiS stosowanych do testu Kendrick (spoza hodowli PZH na hodowlę PZH) wpłynęła na otrzymywanie statystycznie znamien-



Ryc. 2. Różnice mocy komponentu krztuścowego serii szczepionki DTP wyprodukowanych w jednorodnych okresach procesu produkcji i kontroli

Fig.2. Differences in the potency of pertussis component in DTP vaccine lots produced within similar periods of production and control

nej wyższej wartości \log_{10} mocy komponentu wP serii DTwP wyprodukowanych po 1979 roku, w stosunku do serii wyprodukowanych w latach 1972-1979, niezależnie od producenta (Wilcoxon rank-sum test; p -value=0.0008). Podobną zależność otrzymano dla preparatów produkcji KWSS (p -value 0.005), ale nie dla WWSS (p -value 0.27). Porównanie średnich wartości \log_{10} mocy komponentu wP otrzymanych dla serii KWSS/WWSS w siedmiu okresach, w których stosowano jednorodne parametry technologii produkcji oraz badań kontrolnych, wykazało wahania w otrzymanych poziomach mocy (ryc. 2). Wykazano wzrost średnich wartości \log_{10} mocy wP wraz ze zmianą serii preparatu odwoławczego (od Per9 do Per12) w okresach od I do VI. Ta tendencja była jednak słabo zauważalna w przypadku serii DTwP produkcji WWSS, choć porównania można było dokonać jedynie dla okresów I, II i V. Liczba dostępnych wyjściowych danych do obliczeń uśrednionych wartości \log_{10} mocy wP serii DTwP produkcji KWSS w okresie III i IV (mniej niż 10) oraz WWSS (3 wyniki) była zbyt mała, aby średnie traktować jako reprezentatywne. Ponadto, pojedyncze oznaczenie mocy (czyli 1 wyprodukowana seria) charakteryzowało WWSS w okresie IV i VI. Biorąc pod uwagę okresy, w których dostępne były reprezentatywne dane (I, II, V, VI i VII), można zauważyć obniżoną wartość średniej \log_{10} mocy wP serii DTwP produkcji KWSS w okresie VII, w porównaniu do okresów wcześniejszych. Poziom zmienności (SD) w okresach I, II i III średniej mocy wP serii DTwP produkcji WWSS i KWSS był podobny, choć w przypadku WWSS był mniejszy w okresie V i VII, niż występujący w KWSS. Ze względu na fakt, że Per 11 był stosowany do oznaczeń mocy w okresie V wydaje się, że wyższy poziom zmienności obserwowany w okresie V, VI i VII wynikać może z różnic szczepu myszy stosowanych do badań.

DYSKUSJA

Od momentu wykazania w kontrolowanych badaniach terenowych, że aktywność biologiczna komponentu krztuścowego oznaczana w domózkowym teście czynnym na myśzach białych jest wykładnikiem skuteczności szczepionek DTwP, test Kendrick wszedł do kanonu badań kontrolnych mocy uodparniającej szczepionek przeciwkrztuścowych. Stosowany jest jako podstawowy test w przewidywaniu skuteczności poszczególnych serii szczepionek DTwP, do identyfikacji szczepionek o nieodpowiedniej jakości oraz do pomiaru jednorodności produkcji (22,26). Znana jest jednak czułość tego testu na wszelkie elementy zmienne w trakcie jego wykonania, co wpływa na obserwowany często brak powtarzalnych wyników oznaczeń mocy (27). Z tych względów, w celu otrzymywania jednorodnych wyników, w jego wykonaniu należy zwracać szczególną uwagę na elementy krytyczne takie, jak utrzymywanie stabilności szczepu zwierząt eksperymentalnych, dobór ich odpowiedniej wagi oraz płci, warunków oraz czasu ich uodparniania, jednorodnego sposobu wykonania mieszaniny zakażającej i jej podania. Przy profesjonalnym utrzymywaniu warunków testu, otrzymywane wartości mocy mogą odzwierciedlać rzetelnie nawet minimalne wahania i zakłócenia zachodzące podczas produkcji szczepionki, nawet, jeśli proces produkcji szczepionek został zakwalifikowany jako wysoce jednorodny (23,24,29).

Pierwszych oznaczeń mocy wP szczepionek produkowanych w Polsce za pomocą testu Kendrick wykonano w Zakładzie Epidemiologii PZH (30). Rutynowo test wszedł do oznaczeń w polskiej kontroli szczepionek przeciwkrztuścowych w drugiej połowie lat 60-tych. W obecnej pracy do analiz wykorzystano wszystkie zarchiwizowane w ZBSS wyniki testów Kendrick dla komponentu krztuścowego poszczególnych serii szczepionki DTwP, wykonane w latach 1972-2001. Zebrane dane zostały poddane analizie w celu określenia znamienności różnic mocy komponentów przeciwkrztuścowych w odniesieniu do czynników, które w wymienionym okresie uległy zmianom w technologii produkcji oraz w badaniach kontrolnych. Wyniki testów Kendrick dla w/w serii świadczyły, że wP spełniały akceptowane wymagania oraz specyfikacje jakości. Przeprowadzona analiza dowiodła, że na wartości mocy wP wyprodukowanych serii szczepionki DTwP wpływały wszystkie czynniki analizowane jako zmienne, zarówno u producenta oraz w badaniach kontrolnych, z wyjątkiem zmian w objętości SHD oraz źródła adiuwantu. Generalnie zaobserwowano, że do 1990 roku, kiedy obaj producenci byli obecni na rynku, wartości mocy dla wyprodukowanych serii DTwP nie różniły się. Jednak po 1990 roku, w stosunku do okresu wcześniejszego, moc wP serii DTwP KWSS osiągała wyższe wartości. Moc komponentu krztuścowego szczepionki DTwP, produkowanego w oparciu o skład szczepów produkcyjnych typu E, była znamienne wyższa w porównaniu do okresu, w którym serie szczepionki produkowane były w oparciu o skład typu D. Wyniki te częściowo potwierdzają słuszność decyzji zamiany składu D na E wprowadzonej w połowie lat 70-tych, ze względu na niższą immunogenność, wyższy poziom uczulania zwierząt na histaminę oraz niższą stabilność składu wP typu D.

Podobnie, niższe wartości mocy komponentu wP otrzymywano dla serii wyprodukowanych do 1975 roku, kiedy stosowany był preparat odwoławczy Per 9 (1972-1975) w porównaniu do wartości mocy otrzymywanych w okresach, kiedy kolejne preparaty odwoławcze wprowadzono do badań. Interesujące jest ponadto, że Per9 oraz Per10 produkowane były w oparciu o identyczny skład szczepów, jednak odmienny od tego, jaki znalazł

zastosowanie w Per11 oraz Per12. Jeśli uwzględnimy wartości mocy dla preparatów produkcji WWSS oraz KWSS w stosunku do składu szczepów preparatu odwoławczego, to okaże się, że statystycznie znamienne wartości mocy osiągnięte były przez komponenty wP, kiedy do oznaczeń testu stosowano Per11+Per12 w stosunku do Per9+Per10, świadcząc o znaczeniu składu szczepów w formułowaniu składu wzorca.

Źródło (a zatem warunki hodowli) zwierząt eksperymentalnych, stosowanych do testu Kendrick, w sposób statystycznie znamienny wpłynęło na otrzymywanie wyższych wartości mocy serii szczepionek wyprodukowanych po 1978 roku, kiedy myszy szczepu Pzh:SfiS pochodziły z hodowli PZH. Z drugiej strony, wyniki mocy były bardziej jednorodne, kiedy zwierzęta pochodziły z hodowli spoza Instytutu w stosunku do hodowli PZH.

Serie szczepionek porównywano pod względem mocy wP w okresach o podobnych parametrach produkcji oraz kontrolnych i wykazano wahania w wartościach osiąganej mocy u obu producentów. Wzrost wartości mocy komponentu krztuścowego korelował z sekwencyjnymi zmianami preparatów odwoławczych w przypadku serii KWSS we wszystkich badanych okresach. Tendencja ta była słabo widoczna w przypadku serii szczepionek produkcji WWSS, porównywanych w okresach I, II oraz V. Niższe wartości mocy wP otrzymane w VII okresie dla serii DTwP produkcji KWSS zostały skorelowane z obniżeniem liczby IOU/dawkę. W okresie 1992-1997, najprawdopodobniej ze względu na utrzymującą się w świecie obawę wysokiej odczynowości pełnokomórkowych szczepionek przeciwkrztuścowych, liczbę IOU/dawkę obniżono w pewnych seriach nawet do 10 z rutynowo stosowanego do 1992 roku zakresu 15-20 IOU/dawkę. Obecnie najwyższy wzrost zachorowań odnotowuje się w grupie wieku od 5 do 9 lat, a zatem u dzieci szczepionych w latach 1992-1997 (13). Możliwe, że serie szczepionki o relatywnie niższej mocy, wyprodukowane w latach 1992-1997 (choć spełniające w pełni minimum wymagane przez FE) mogły być przyczyną nieco słabszej ich skuteczności. Różnice w jakości szczepionki mogą wpływać na wyniki kontrolowanych badań terenowych, stąd dolny zakres wartości mocy może mieć realną wartość w obniżeniu się skuteczności DTwP (31). Badania *Ślusarczyka* i wsp. (32) wykazały 50% spadek poziomu przeciwciał wśród 9-latków w porównaniu do 7-latków. Jeśli szybkość spadku poziomu przeciwciał byłaby wyższa w grupie dzieci urodzonych w latach 1997-2002 (kiedy osiągną wiek 9-latków), możliwy efekt obniżonej mocy serii o zmniejszonej zawartości IOU w pewnej mierze zostałby potwierdzony.

Wyniki mocy wP w badaniach KWSS oraz ZBSS nie były zgodne i wyższe wartości mocy otrzymywano w ZBSS. Niższą zmienność wartości mocy wykazywano dla wyników KWSS, co może świadczyć o większej jednorodności procesu produkcji i kontroli szczepionki utrzymywanej przez producenta i/lub wyższej czułości badań kontrolnych ZBSS w wykrywaniu wahań mocy wP. Prawdliwość oznaczeń mocy wP szczepionki DTwP, wykonywanych w ZBSS, wykazano w porównawczych badaniach międzynarodowych (33). Dodatkowo należy zauważyć, że w przypadku KWSS, a nie WWSS, wyniki mocy wP były jednoznacznie uzależnione od składu szczepów produkcyjnych, preparatu odwoławczego, składu szczepów stosowanych do produkcji preparatu odwoławczego, źródła zwierząt eksperymentalnych.

Wieloczynnikowa oraz wieloletnia analiza mocy komponentu wP w stosunku do wprowadzanych zmian może ocenić tendencje wzrostu, czy obniżania się wartości mocy, wskazując na czynniki o najwyższym potencjale zmienności. Przedstawione wyniki mają znaczenie dla nadzoru nad jakością szczepionki oraz dla perspektyw polepszania skuteczno-

ści szczepionek poprzez np. dokonywanie zmian szczepów produkcyjnych, które w innych krajach od momentu rozpoczęcia produkcji nie miały miejsca.

Należy zaznaczyć, że analizowano wyniki testów wykonanych do roku 2001, tj. do czasu kiedy testy Kendrick wykonywano w oparciu o takie same parametry. Po 2001 roku zaszły kolejne zmiany źródła zwierząt eksperymentalnych, poprawiły się warunki utrzymywania zwierząt w trakcie doświadczeń (urządzenia klimatyczno-wentylacyjne zapewniające stabilne i wystandaryzowane warunki z automatycznie regulowaną wentylacją oraz systemem filtrów zakupione z dotacji nr 35/98 Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej), oraz podawania zawiesiny zakaźającej (półautomatyczny dozownik Hamilton, zakupiony w ramach współpracy z ŚOZ, dotyczącej oznaczania mocy komponentu krztuścowego).

A Gzyl, G Gniadek, E Augustynowicz, D Rabczenko, B Husejnow, M Zawadka, J Ślusarczyk

PERTUSSIS INCIDENCE INCREASE AND QUALITY OF WHOLE-CELL PERTUSSIS COMPONENT OF THE DTP VACCINE PRODUCED IN POLAND. PART I. POTENCY OF DTP VACCINE

SUMMARY

This study aimed to identify and to evaluate the level of potency fluctuations of the pertussis component of Polish-produced DTP vaccine lots produced within 1972-2001 due to the changes having occurred in production and potency testing procedures. The study confirms that higher potency values were obtained for vaccine lots produced since 80-ties, e.g. after changes of: references lots (1975), vaccine strains (1978) and source of animals used in Kendrick tests (1979). Additionally, the comparisons performed revealed a down trend in potency levels within 1992-1999 correlating to the lowering of the number of IOU/dose.

PIŚMIENNICTWO

1. Gangarosa EJ, Galazka AM, Wolfe CR, i in. Impact of anti-vaccine movements on pertussis control: the untold story. *Lancet* 1998;351:356-61.
2. Galazka A. Czy możemy lepiej zapobiegać krztuścowi? Zmiany w epidemiologii krztuśca. *Przegl Epidemiol* 1997;51:275-84.
3. Zielinski A. Krztusiec w 1998. *Przegl Epidemiol* 2000;54:45-50.
4. Zielinski A. Krztusiec w 2000. *Przegl Epidemiol* 2002;56:235-9.
5. Tomaszunas-Błaszczak J. Krztusiec w 1996. *Przegl Epidemiol* 1998;52:23-32.
6. Andrews R, Herceq A, Roberts C. Pertussis notifications in Australia. *Commun Dis Intel* 1997;21:145-8.
7. Boursaux-Eude C, Thiberge S, Caeletti G, i in. Intranasal murine model of *Bordetella pertussis* infection: II. Sequence variation and protection induced by a tricomponent acellular vaccine. *Vaccine* 1999;17:2651-60.
8. Cassidy P, Sanden G, Heuvelman K, i in. Polymorphism in *Bordetella pertussis* pertactin and pertussis toxin virulence factors in the United States, 1935-1999. *J Infect Dis* 2000;182:1402-8.
9. Bass JW, Wittler RR. Return of epidemic pertussis in the United States. *Pediatr Infect Dis J* 1994;13:343-5.
10. Fry NK, Neal S, Harrison TG, i in. Genotypic variation in the *Bordetella pertussis* virulence factors pertactin and pertussis toxin in historical and recent clinical isolates in the United Kingdom. *Infect Immun* 2001;69:5520-8.
11. Gzyl A, Augustynowicz E, van Loo I, i in. Temporal nucleotide changes in pertactin and pertussis

- toxin genes in *Bordetella pertussis* strains isolated from clinical cases in Poland. *Vaccine* 2000;20:299-303.
12. Mastrantonio P, Spigaglia P, van Oirschot H, i in. Antigenic Variants in *Bordetella pertussis* strains isolated from vaccinated and unvaccinated children. *Microbiology* 1999;145:2069-75.
 13. Zieliński A, Czarkowski MP. Skuteczność szczepień przeciw krztuścowi w okresie epidemii 1997-1998 w Polsce. *Przegl Epidemiol* 2000;54:207-15.
 14. Edwards KM. Acellular pertussis vaccines: a solution to the pertussis problem? *J Infect Dis* 1993;168:15-20.
 15. Mooi FR, He Q, van Oirschot H, i in. Variation in the *Bordetella pertussis* virulence factors pertussis toxin and pertactin in vaccine strains and clinical isolates in Finland. *Infect Immun* 1999;67:3133-4.
 16. Mooi FR, van Oirschot H, Heuvelman K, i in. Polymorphism in the *Bordetella pertussis* virulence factors P69/pertactin and pertussis toxin in The Netherlands: temporal trends and evidence for vaccine driven evolution. *Infect Immun* 1998;2:670-5.
 17. De Melker HE, Schellekens JF, Neppelenbroek SE, I in. Reemergence of pertussis in the highly vaccinated population of the Netherlands: observations on surveillance data. *Emerg Infect Dis* 2000;6:348-57.
 18. Mooi FR, Hallander H, Wirsing von König CH, i in. Epidemiological typing of *Bordetella pertussis* isolates: recommendations for a standard methodology. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000;19:174-81.
 19. Weber C, Boursaux-Eude C, Coralie G, i in. Polymorphism of *Bordetella pertussis* isolates circulating for the last 10 years in France, where a single effective whole-cell vaccine has been used for more than 30 years. *J Clin Microbiol* 2001;39:4397-403.
 20. Njamkepo E, Rimlinger F, Thiberge S, i in. Thirty-five years' experience with the whole-cell pertussis vaccine in France: vaccine strains analysis and immunogenicity. *Vaccine* 2002;20:1290-4.
 21. European Pharmacopoeia, 3rd ed. 1997; p. 116., 1305-06
 22. Kendrick PL, Eldering G, Dixon MK, i in. Mouse protection test in the study of pertussis vaccine: a comparative series using intracerebral route of challenge. *Am J Public Health* 1947;37:803-10.
 23. World Health Organization. Requirements for diphtheria, tetanus, and pertussis and combined vaccines. Technical Report Series no. 800,1990. p. 87-168.
 24. Armitage P. Statistical methods in medical research. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1971.
 25. Finney DJ, Statistical methods in biological assay, 3rd edition. London: Charles Griffin and Co. Ltd. 1978.
 26. Medical Research Council. Vaccination against whooping cough. Relation between protection in children and results of laboratory tests. *Brit Med J* 1956;2:454-62.
 27. Murata R, Perkins FT, Pittman M, i in. International collaborative studies on the pertussis vaccine potency assay. Part played by the challenge in the mouse-protection test. *Bull World Health Organ* 1971;44:673-87.
 28. Dellepiane N, Griffiths E, Milstein JB. New challenges in assuring vaccine quality. *Bull World Health Organ*. 2000;78:155-60.
 29. World Health Organization. Informal consultation on the control of pertussis with whole cell and acellular vaccines. Geneva: WHO/V&B/99.03.
 30. Naruszewicz D, Piątkowski J. Zastosowanie domózgowego testu czynnego na myszach dla oceny właściwości uodporniających szczepionek przeciwkrztuścowych wyrabianych w Polsce. *Przegl Epidemiol* 1960;15:39-45.
 31. Xing D, Das RG, O'Neill TO, i in. Laboratory testing of whole cell pertussis vaccine: a WHO proficiency study using the Kendrick test. *Vaccine* 2002;20:341-51.

32. Ślusarczyk J, Dulny G, Nowak K, i in. Stan uodpornienia dzieci w wieku 6-8 lat przeciw krztuścowi, tężcowi i błonicy. *Przeegl Epidemiol* 2002;56:39-48.
33. Milstein JB, Gellin BG, Kane M, i in. Global DTP manufacturing capacity and capability. Status report: January 1995. *Vaccine* 1996;14:313-20.

Otrzymano: 18.05.2004 r.

Adres autorów:

Anna Gzyl
Zakład Badania Surowic i Szczepionek
Państwowy Zakład Higieny,
ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa