



Національний фармацевтичний університет

Кафедра мікробіології, вірусології та імунології

Лекція з мікробіології з основами імунології

спеціальності 7.12020101 Фармація

***ІМУНОБІОЛОГІЧНІ ПРЕПАРАТИ ДЛЯ
ПРОФІЛАКТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ
ІНФЕКЦІЙНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ
ЧАСТИНА 1. ВАКЦИНИ, АНАТОКСИНИ***

Лектор
доцент каф. мікробіології,
вірусології та імунології

План лекції

1. Імунобіологічні препарати. Вакцини.
2. Види вакцин, їх характеристика, шляхи отримання.
3. Способи введення вакцин.
4. Імунні сироватки, їх характеристика, класифікація.
5. Імуноглобуліни.
6. Алгоритм отримання гомологічних та гетерологічних імунних сироваток.
7. Введення імунних сироваток.

Питання для самостійного вивчення:

Алергія.

Поняття про алергію. Алергени, їх отримання і використання.

Класифікація алергічних реакцій за Джелом і Кумбсом. Механізм розвитку. Клінічні прояви

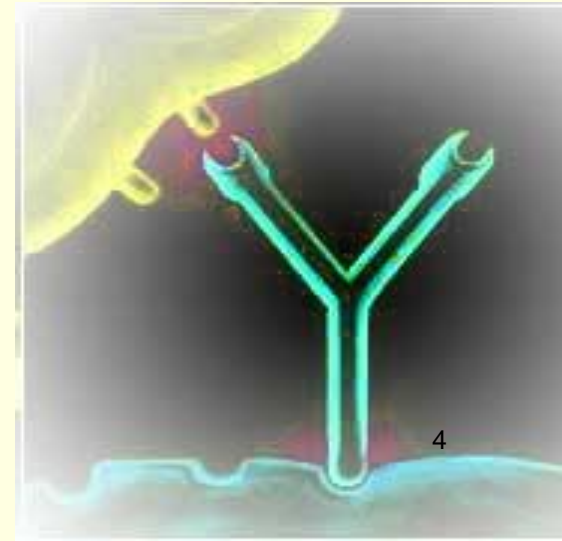
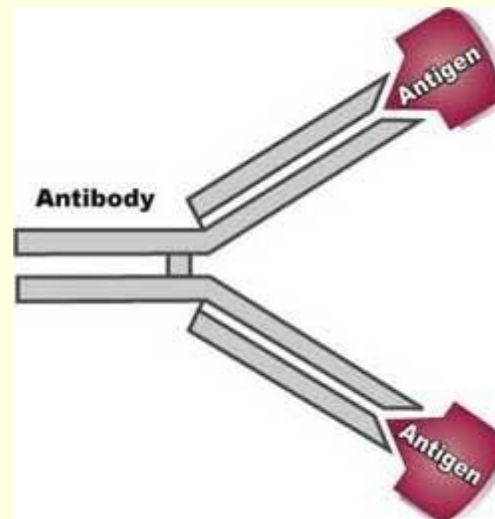
Рекомендована література

1. Мікробіологія: Підр. для студ. / І. Л.Дикий, І. Ю.Холупяк, Н. Ю. Шевельова, та ін. 2-е вид.– Х. : Професіонал, 2006. – 433 с.
2. Микробиология: Руководство к лабораторным занятиям. Учеб. пособие для студентов высших учебных заведений / И.Л. Дикий, И.И Сидорчук, И.Ю. Холупяк, Н.Е. Шевелёва, М.М. Великая, Н.А. Волкова, Л.Ф. Силаева, О.П. Стрилец, О.Г. Гейдерих, В.Е. Литаров. – Х.: Изд-во НфаУ; Золотые страницы, 2002.- 444 с.
3. Микробиология. Методические рекомендации для студентов фармацевтических высших учебных заведений / И.Л. Дикий, И.Ю. Холупяк, М.М. Великая, Н.Е. Шевелева и др. – Х., 2004. – 144 с.
4. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии: Учебн. пособ. для студ. мед. вузов / Под. ред. А. А. Воробьева, А. С. Быкова. – М. : Медицинское информационное агентство, 2003. – 236с.

ІМУНОБІОЛОГІЧНІ ПРЕПАРАТИ

Це велика група лікарських засобів (вакцини, анатоксини, сироватки, імуноглобуліни та інш.), які використовуються для лікування і профілактики багатьох інфекційних захворювань.

Особливість імунобіологічних препаратів - специфічність дії.



Історія сучасної вакцинопрофілактики почалася 14 травня 1796 р.



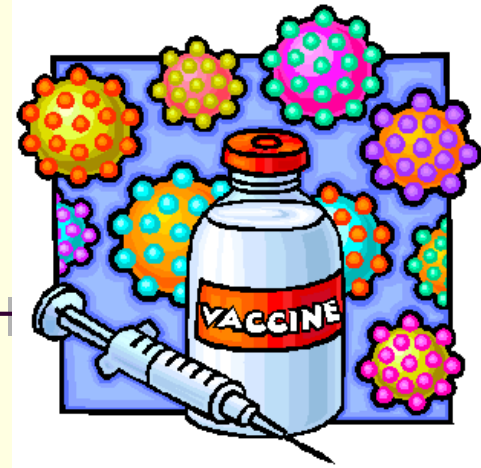
Англійський лікар Дженнер прищепив проти натуральної віспи хлопчика.



Володимир Хавкін проводить вакцинацію місцевого населення від чуми.
Калькутта, 1893 р.

ВАКЦИНИ

(лат. *vaccinum* - коров'ячий,
від *vassa* – корова)



Це препарати, призначені для створення активного імунітету проти певних інфекційних захворювань.

Вакцинація - імунопрофілактика інфекційних хвороб шляхом введення вакцин (проведення профілактичних щеплень).

ВИДИ ВАКЦИН

Вакцини - препарати, які отримують з мікроорганізмів (бактерій, рикетсій, вірусів) або продуктів їх життєдіяльності.

Вакцини бувають:

- живі;
- інактивовані;
- хімічні;
- анатоксини;
- синтетичні;
- генно-інженерні.



ЖИВІ ВАКЦИНИ



містять життєздатні штами мікроорганізмів збудників), з втраченою або ослабленою вірулентністю.

Втрата вірулентності в таких штамів закріплена генетично.

Приклади - вакцини проти

поліомієліту,

кору,

паротиту,

краснухи,

туберкульозу.

ОТРИМАННЯ ЖИВИХ ВАКЦИН

1. Шляхом штучної аттенуації (ослаблення) патогенних мікроорганізмів
2. Шляхом відбору природних авірулентних штамів.
3. Методами генної інженерії (генетичних рекомбінацій)
на рівні хромосом
з використанням ферментів рестриктаз.



Аттенуація -

штучне стійке ослаблення, зменшення вірулентності збудників інфекційних хвороб.

Методи аттенуації:

■ *Культивування* - пристосування мікроорганізмів до несприятливих умов середовища, дія бактеріофага, температури, антибіотиків (суббактеріостат. концен.), променистої енергії.

■ *Пасажі* - адаптація збудника до організму несприйнятливих тварин.



ПЕРЕВАГИ ЖИВИХ ВАКЦИН

- Розвиток високонапруженого, міцного імунітету, подібного до імунітету, що формується при природній інфекції.
- Тривале збереження імунітету.
- Однократність імунізації.
- Можливість введення не лише підшкірно, але і іншими, простішими шляхами, зручнішими при проведенні масової вакцинації.

НЕДОЛІКИ ЖИВИХ ВАКЦИН

- Можливість реверсії вірулентних форм.
- Місцева резистентність у вхідних воріт інфекції (утворення антитіл IgA).
- Контамінація іншими вірусами і мікоплазмами, персистуючими в клітинах субстрату (курячі ембріони, експериментальні тварини, культури клітин).
- Алергізація організму.
- Складність стандартизації.
- Легко чутливі до дії високих температур.

ІНАКТИВОВАНІ ВАКЦИНИ

ВИГОТОВЛЕНІ З ВИКОРИСТАННЯМ ІНАКТИВОВАНИХ
ВИРОБНИЧИХ ШТАМІВ ВІДПОВІДНИХ ЗБУДНИКІВ ІНФЕКЦІЙ,
ЩО ВОЛОДІЮТЬ *повноцінними антигенними*
властивостями і високою вірулентністю.

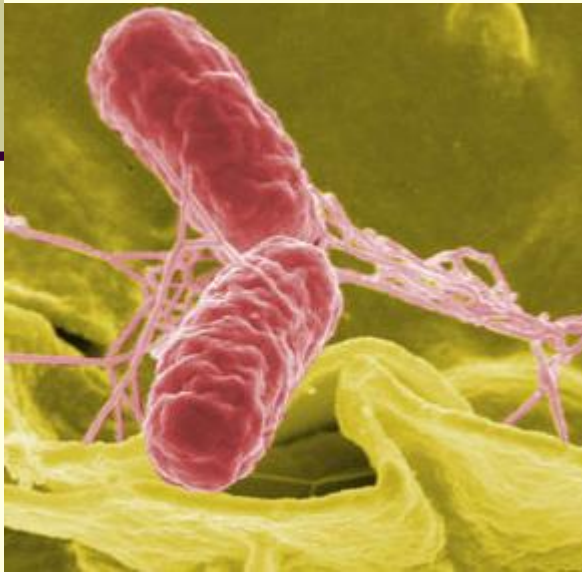


ОТРИМАННЯ ІНАКТИВОВАНИХ ВАКЦИН

- Спеціально відібрані та перевірені виробничі штами бактерій вирощують на штучних живильних середовищах, а штами вірусів - в організмі тварин або культурах тканин.
- Отримані після культивування суспензії бактерій або вірусів піддають інактивації різними фізичними (тепло, ультрафіолетове опромінення) і хімічними (формалін, спирт, фенол) методами, основними вимогами до яких є: ***надійність інактивації, мінімальна ушкоджувальна дія на антигени бактерій і вірусів.***

АУТОВАКЦИНИ

Інактивовані вакцини індивідуального призначення, виготовлені з штамів мікроорганізму, що викликав захворювання у конкретного хворого.



ПЕРЕВАГИ І НЕДОЛІКИ ІНАКТИВОВАНИХ ВАКЦИН

Переваги

- Можливість стандартизації
- Безпека
- Тривало зберігаються і менш чутливі до температурних коливань



Недоліки

- Короткочасність імунітету, необхідність повторної імунізації
- Реактогенність
- Необхідність контролю повної інактивації штаму

ХІМІЧНІ ВАКЦИНИ



Представляють собою найбільш активні за імунологічними властивостями специфічні компоненти - антигени, які отримують з мікробних клітин фізико-хімічними методами.

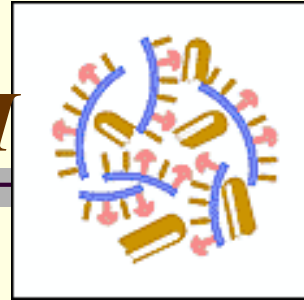
Це складні комплекси органічних сполук – полісахаридів, поліпептидів, ліпідів.

Приклади: полісахаридні вакцини (менінгіт А + С, Пневмо 23), ацелюлярні кашлюкові вакцини.

ПЕРЕВАГИ ХІМІЧНИХ ВАКЦИН

- *більш ефективні і менш реактогенні* у порівнянні з корпускулярними вакцинами.
- Це дозволяє вводити людині великі дози антигенів, що *підвищує імунологічний ефект*,
- створює можливість застосування *асоційованих препаратів*
- отримані з мікробної клітини *антигени більш стабільні*
- їх *легше стандартизувати*, ніж корпускулярні вакцини.

СУЧАСНІ ХІМІЧНІ ВАКЦИНИ – СУБОДИНИЧНІ І СПЛІТ- ВАКЦИНИ



Розщеплені (спліт) вакцини

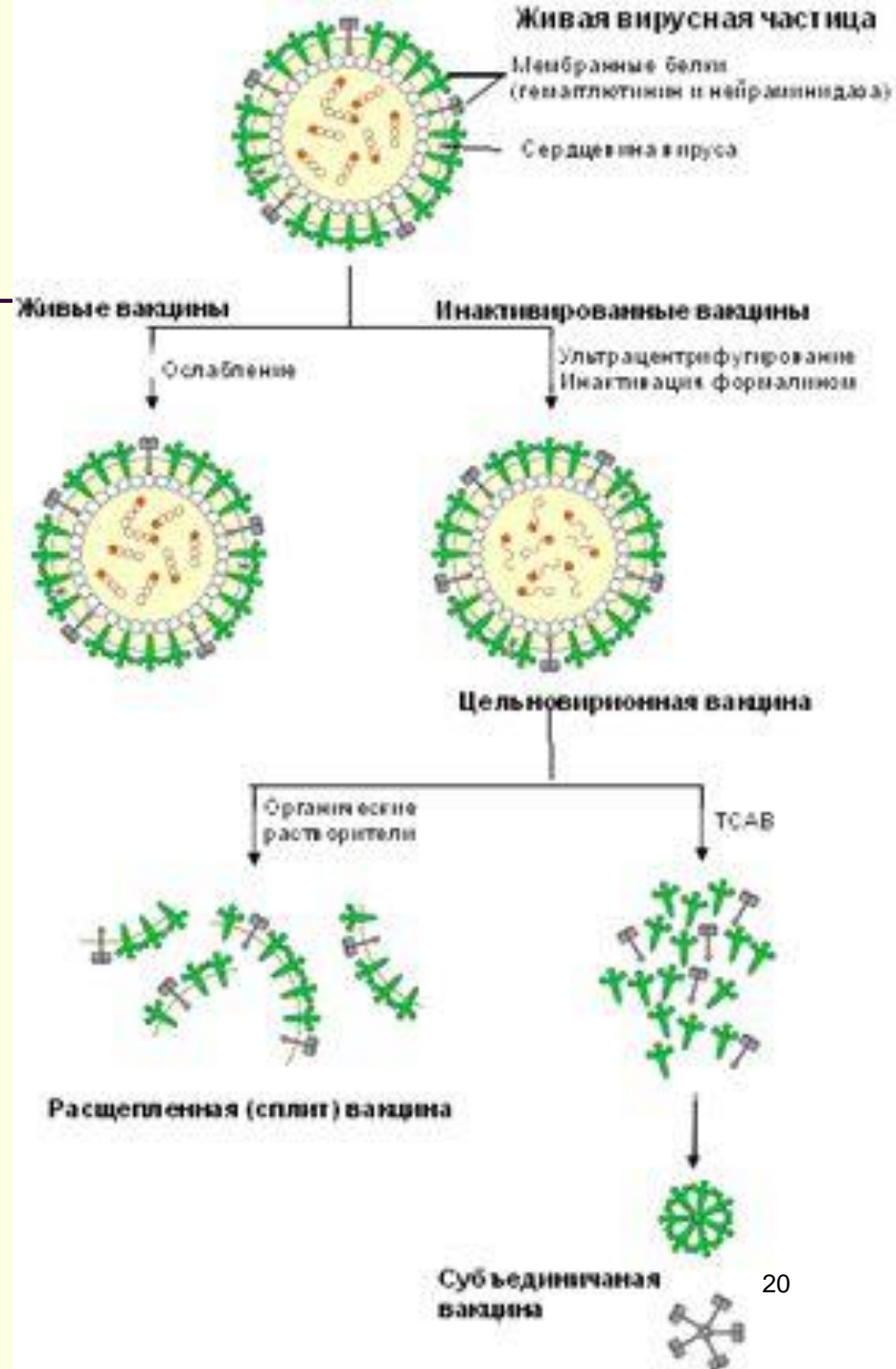
містять протективні вірусні антигени і баластні вірусні білки, що не грають ролі в створенні протективного імунітету. Такі вакцини менш реактогенні, ніж корпускулярні.

Субодиничні вакцини

містять тільки протективні вірусні антигени і не містять баластних вірусних білків. Такі вакцини виграють в безпеці і дають найнижче число побічних реакцій.

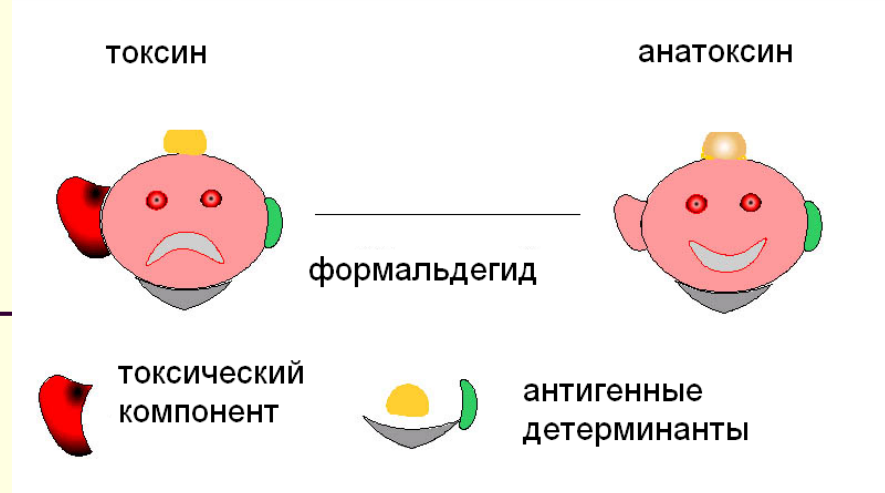


ПРОТИГРИПОЗНІ ВАКЦИНИ



АНАТОКСИНИ

- Вакцини, виготовлені зі знешкоджених токсинів мікроорганізмів (вакцини проти правця, ботулізму).
- Поряд з токсичністю, *екзотоксини* мають досить важливу у практичному відношенні властивість - *антигенність*.
- Після додавання 0,3-0,4% формаліну і витримування протягом декількох днів при 37-40°C токсини повністю *втрачають токсичність, але зберігають антигенні властивості*.



СИНТЕТИЧНІ ВАКЦИНИ

- є поєднанням специфічного синтетичного антигену (гаптени, білки, полісахариди) з ад'ювантом, імунопотенціатором та ін.
- Отримують синтетичні антигенні молекули хімічним синтезом.
- Молекула синтетичних вакцин може містити різнорідні ділянки (епітопи), які здатні формувати імунітет до різних видів інфекцій.
- Володіють високим ступенем стандартності, слабкою реактогенністю, безпечні.



- З метою підвищення імуногенності до складу інактивованих, субодиничних, синтетичних вакцин і анатоксинів додають *ад'ювант*, найчастіше сорбенти-гелі (гідрат окису алюмінію та ін.).
- Препарати, в яких антиген знаходиться в сорбованому стані, називають *сорбованими або адсорбованими* (дифтерійний, правцевий, ботулінічний сорбовані анатоксини).
- Сорбент відіграє роль носія і ад'юванта.
- В якості носія в синтетичних вакцинах запропоновані всілякі полімери (полісахариди бактеріального та рослинного походження; бактеріальні глікопептиди; нуклеїнові кислоти; синтетичні поліпептиди, глікопептиди, полінуклеотиди; синтетичні карболанцюгові і гетероланцюгові поліаніони і полікатиони).

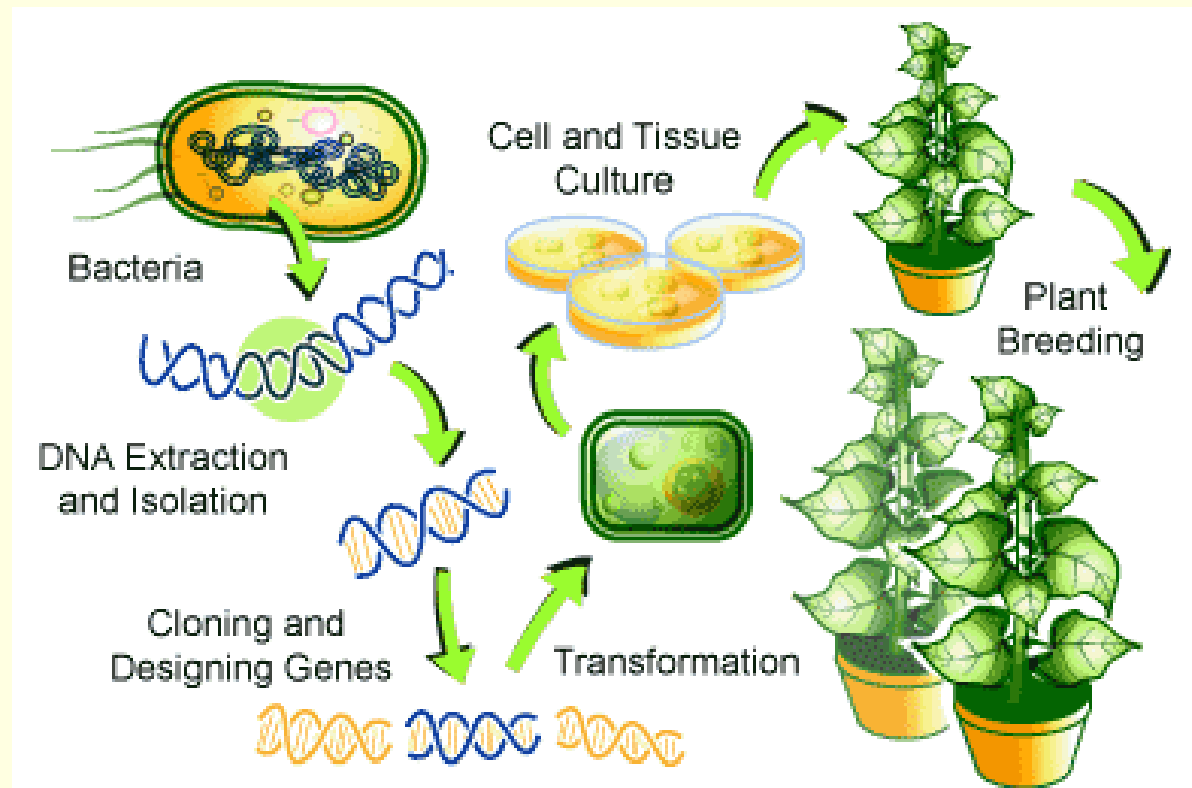
ГЕННО-ІНЖЕНЕРНІ ВАКЦИНИ

- **Принцип створення** - до структури ослаблених вірусів, бактерій, дріжджів або клітин вищих організмів вбудовується ген, який відповідає за утворення антигену того збудника, проти якого буде спрямована вакцина.
- В якості вакцин можуть використовуватися:
 - *самі модифіковані мікроорганізми* (наприклад, антирабічна вакцина для тварин на основі осповакцини) – рекомбінантні вакцини,
 - *очищений антиген*, який утворився при культивуванні мікроорганізму *in vitro* (наприклад, вакцина проти гепатиту В).

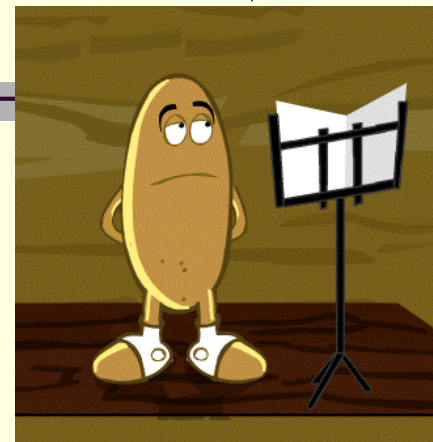


ВАКЦИНИ НА ОСНОВІ ТРАНСТГЕННИХ РОСЛИН

Ці вакцини одержують шляхом вбудовування в геном рослин відповідного фрагменту геному патогенного мікроорганізму.

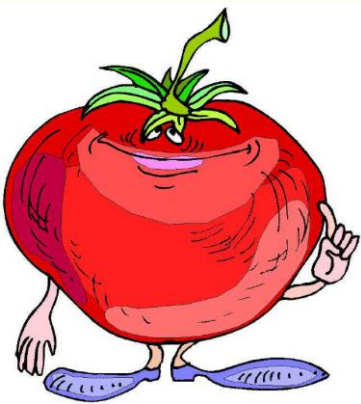


- 1992 р.: трансгенні рослини тютюну стали продукувати "австралійський" антиген, який у мишей викликав імунну відповідь подібно вакцині проти гепатиту В.



- 1998 р.: за допомогою картоплі, продукуючої В-субодиницю холерного анатоксину, був отриманий імунітет у мишей, що поїдали її при зараженні їх холерою.

- картопля, продукуюча антигени ентеропатогенної кишкової палички.
- Зараз випробовуються на тваринах вакцини проти сказу, вирощені на помідорах.

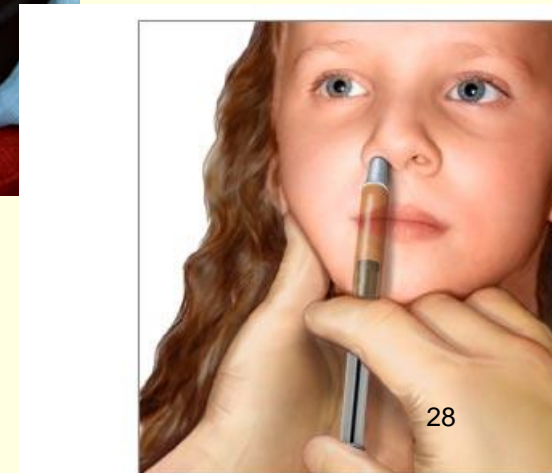


- Японські дослідники створили вакцину проти холери на основі рису, яку можна просто з'їсти.

- ***Асоційовані*** (синоніми: полівакцини, комплексні, комбіновані, багатокomпонентні) - вакцини призначені для одночасної імунізації проти різних інфекційних хвороб (наприклад, вакцина АКДС, до складу якої входять антиген збудника кашлюку, правцевий і дифтерійний анатоксини);
- ***Моновакцини*** - вакцини призначені для імунізації проти однієї інфекційної хвороби (приклад, БЦЖ).
- ***Полівалентні*** - вакцинні препарати, виготовлені з декількох серологічних варіантів (типів) збудника однієї інфекційної хвороби (полівалентні вакцини проти грипу, лептоспірозу).

СПОСОБИ ВВЕДЕННЯ ВАКЦИН

Аерозольний
Внутрішньом'язовий
Внутрішньошкірний
Інтраназальний
Пероральний
Підшкірний



Що визначає якість вакцин?

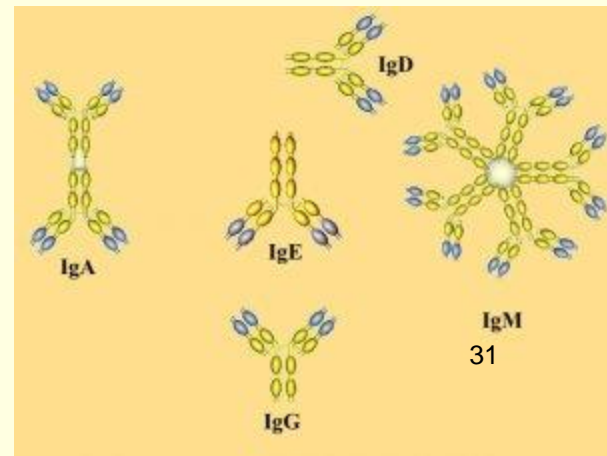
- *Антигенність* - показник, що характеризує здатність антигену індукувати синтез антитіл в організмі. Існує пряма кореляція між антигенністю та молекулярною масою антигену.
- *Імуногенність* - здатність антигенів викликати імунну відповідь і створення імунітету, що забезпечує захист організму від проникнення антигенів, що викликали імунну відповідь.
- *Ареактогенність або низька реактогенність.*

***ІМУНОБІОЛОГІЧНІ
ПРЕПАРАТИ ДЛЯ
ПРОФІЛАКТИКИ ТА
ЛІКУВАННЯ ІНФЕКЦІЙНИХ
ЗАХВОРЮВАНЬ
ЧАСТИНА 2. СИРОВАТКИ,
ІМУНОГЛОБУЛІНИ***



ІМУННІ СИРОВАТКИ (ІС)

- Імунобіологічні препарати, які використовуються для створення *штучного пасивного імунітету* проти інфекційних захворювань.
- Отримують із сироватки крові імунізованих тварин і (або) людей, що містять у своєму складі імунні антитіла (імуноглобуліни) проти певних антигенів.



ІМУНОГЛОБУЛІНИ



- імунобіологічні препарати, які одержують із ІС шляхом глибокого очищення від інших білкових фракцій (альбумінів, α -, β -глобулінів).
- Містять менше баластового білка і мають більш високу концентрацію антитіл.
- Імуноглобуліни (син. антитіла) - це молекули білкової природи, які синтезуються в організмі В-лімфоцитами у відповідь на введення антигену.
- Антитіла зв'язуються з антигеном і знешкоджують його.

ЗА ПРИЗНАЧЕННЯМ ІС ПОДІЛЯЮТЬСЯ НА :

- Діагностичні
- Лікувально-профілактичні



ДІАГНОСТИЧНІ ІС

Застосовують *для лабораторної діагностики* різних інфекційних захворювань:

- для ідентифікації збудника за антигенною структурою в ході бактеріологічного методу
- для виявлення антигенів збудника в ході серологічного методу





ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНІ ІС І ІМУНОГЛОБУЛІНИ

- застосовують *для екстреної специфічної профілактики* інфекційних захворювань (* серопротекції)
- *специфічного лікування* (серотерапії)
- * SERUM – сироватка
- *Сироватка крові* (Blood Serum) - рідка частина крові, яку отримують після видалення з неї фібриногену та клітин крові, що випадають у вигляді осаду.

ФОН БЕРІНГ (VON BEHRING) ЕМІЛЬ

(1854-1917)

Вперше застосував на практиці метод пасивної імунізації проти інфекційних захворювань.



КЛАСИФІКАЦІЯ ЗА ДЖЕРЕЛОМ ОТРИМАННЯ

- гетерологічні ІС - отримують від імунізованих тварин
- гомологічні ІС - отримують від вакцинованих або перехворілих людей.

ГЕТЕРОЛОГІЧНІ ІС

- Являються для організму людини чужорідними антигенами
- Їх використання супроводжується розвитком антитіл, які можуть не тільки нейтралізувати дію препарату, але і викликати в організмі тяжкі алергічні та імунокомплексні реакції.

ПЕРЕВАГИ гетерологічних ІС:

- Інтенсивна імунізація тварин дозволяє досягати високих концентрацій антитіл;
- Не має обмежень в доборі продуцентів, тоді як імунізація донорів пов'язана з труднощами.

ЗА СПРЯМОВАНІСТЮ ДІЇ

- **Антитоксичні** (проти дифтерії, правця, ботулізму)
- препарати містять антитоксичні антитіла, які нейтралізують специфічні токсини.
- **Антибактеріальні** - сироватки містять аглютиніни, преципітини та ін. антитіла до збудників бактеріальних інфекцій (дизентерія, чума та ін.)
- **Противірусні** - містять противірусні антитіла (протигрипозна, антирабічна).

ІМУННІ СИРОВАТКИ ТА ІМУНОГЛОБУЛІНИ

створюють *екстрений пасивний імунітет* практично відразу після їх введення, що особливо важливо при екстреній профілактиці захворювань з коротким інкубаційним періодом і лікуванні вже розвиненої хвороби.

ТРИВАЛІСТЬ ІМУНІТЕТУ

Пасивний імунітет зберігається при введенні
гомологічних сироваток до 1-1,5 місяців;
гетерологічних - до 10-20 діб.

Чужорідні білки руйнуються швидше.

АКТИВНІСТЬ (СИЛУ) ІМУННИХ СИРОВАТОК

- Виражають в одиницях, які визначають у серологічних реакціях нейтралізації, аглютинації, преципітації та ін.
- Активність антитоксичних сироваток виражають у міжнародних одиницях (МО):
1 МО - кількість антитіл, що нейтралізує встановлену дозу токсину.
- Титрування сироваток проводять за Рамоном, Ерліхом і Ремером.



АЛГОРИТМ ОТРИМАННЯ ГЕТЕРОЛОГІЧНИХ СИРОВАТОК

Для приготування імунної сироватки у великих кількостях використовується біологічний матеріал, взятий в коней.

Коні є найбільш відповідним для цієї мети видом тварин; від них вдається отримувати високоактивні сироватки в досить великих кількостях.



- Для імунізації відбирають тварин у яких немає видового імунітету до певного антигену.
- Карантин-спостереження-відбір.
- *Грундімунізація* - введення малих доз антигену.
- *Гіперімунізація* - імунізація за схемою, враховуючи кратність введення антигену, інтервал між введеннями, наростання доз.
- Відбір крові.
- Відпочинок.
- Імунізація за схемою.

- Кров звільняють від формених елементів і фібрину.
- Фільтрація.
- Стандартизація за концентрацією антитіл.
- В сироватці багато баластних білків (альбуміни), тому необхідне очищення.
- Очищення і концентрування сироватки: метод «Діаферм-3».
- Для отримання імуноглобулінів сироватку піддають додатковому очищенню осадженням спиртом на холоді.
- Стерилізація механічним способом: стерилізуюча фільтрація.
- Випробовують на пірогенність, нешкідливість і стерильність.

ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ АЛЕРГІЧНИХ УСКЛАДНЕНЬ (анафілактичний шок, сироваткова хвороба)

- перед введенням сироваткових препаратів обов'язкова постановка внутрішньошкірної проби на чутливість до препарату.
- Імунні сироватки та імуноглобуліни вводять за методом Безредко.

МЕТОД БЕЗРЕДКО

- Визначається індивідуальна чутливість до чужорідного білку введенням внутрішньошкірно 0,1 мл сироватки, розведеної 1:100.
- Якщо реакція на внутрішньошкірну пробу *негативна*, то через 20 хв вводять 0,1 мл нерозведеної сироватки, а через 30-60 хвилин всю дозу.
- *при позитивній* шкірній пробі, сироватку розводять всю і вводять дробними дозами 0,5; 2; 5 мл з інтервалами 20-30 хвилин.

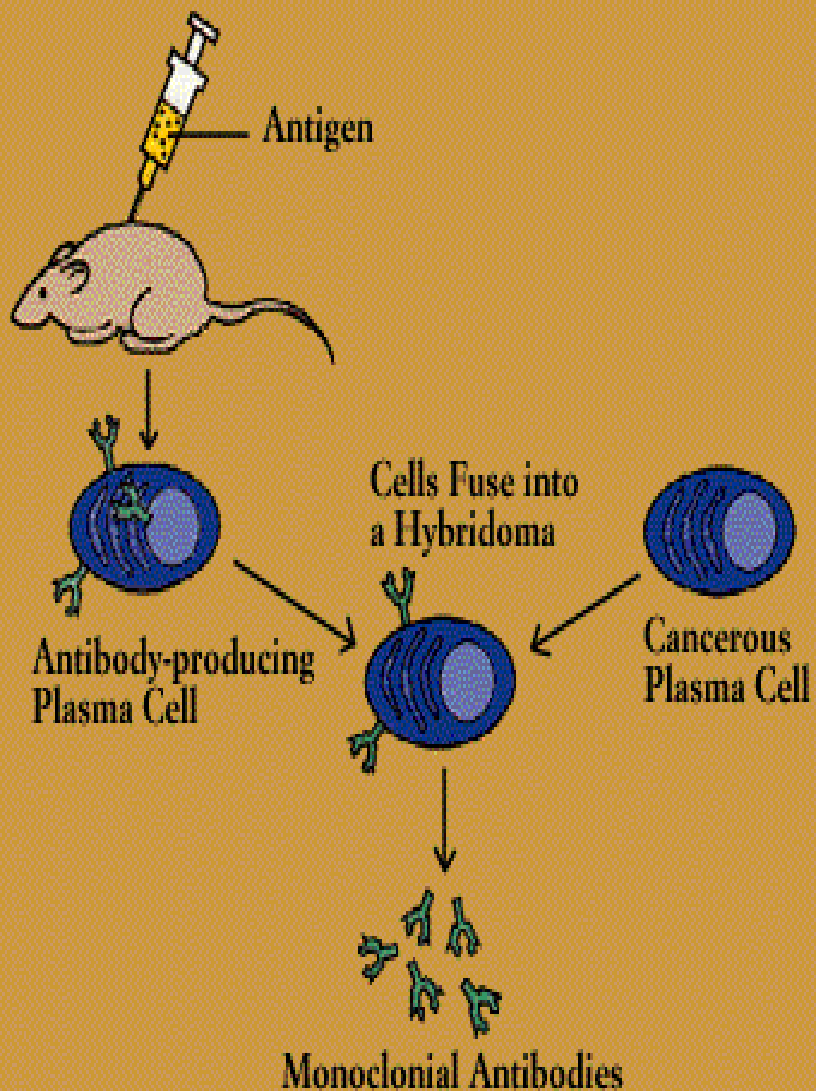
ПРЕПАРАТИ ІМУНОГЛОБУЛІНІВ

- Отримують з людської крові (донорської або плацентарної)
- Для людини не імуногенні (перевага над гетерологічними сироватками і глобулінами).
- Попередньо змішують сироватки, які отримані з крові різних осіб, тому концентрація антитіл в них невелика.
- Крім антитіл, заради яких готують препарати імуноглобулінів, вони містять інші антитіла, що знаходяться в крові людини.
- Вводять внутрішньомязово, підшкірно або наносять на слизові оболонки.

МОНОКЛОНАЛЬНІ АНТИТІЛА

- в 1975 році англійськими вченими Георгом Келером і Цезарем Мільштейном запропоновано методику отримання клітинних гібридів – гібридом, здатних до утворення необмеженої кількості однорідних продуктів одного клону клітин – **МОНОКЛОНАЛЬНИХ АНТИТІЛ**.
- Перспективні препарати, які володіють високою специфічністю дії.
- На 100% складаються із специфічних антитіл, що дозволяє їх вводити в малих (низькоімуногенних) дозах.

ПРИНЦИП ОТРИМАННЯ МОНОКЛОНАЛЬНИХ АНТИТІЛ



1. Імунізація тварин (частіше миші) необхідним антигенним матеріалом.
2. У відповідь на введення антигену в організмі миші активізується продукція антитіл В-лімфоцитами.
3. Видаляють селезінку, з неї вилучають антитілопродукуючі В-лімфоцити. Ці клітини можуть жити лише в організмі, при введенні в штучне живильне середовище вони гинуть.
4. Злиття лімфоцитів з клітинами мієломи кісткового мозку, культивуємими *in vitro*.
5. До суміші додають речовину, що пошкоджує оболонки клітин і сприяє їх злиттю між собою (поліетиленгліколь, лізолецитин або вірус Сендай)
6. Утворюються гібридні клітини, здатні необмежено довго жити в штучних середовищах.
7. Одночасно вони зберігають здатність синтезувати антитіла.

ВИКОРИСТАННЯ МОНОКЛОНАЛЬНИХ АНТИТІЛ

- Для ідентифікації клітин – виявлення Т- і В-лімфоцитів і інш. клітин, визначення їх властивостей.
- Для здійснення сучасних радіоімуних, імуноферментних та імунофлюоресцентних методів виявлення антигенів та антитіл.
- Для визначення локалізації антигенів в організмі і доставки до них (напр. пухлину) лікарських речовин, приєднаних до антитіл.
- Для приготування імуносорбентів, що дозволяють виділити з організму антигени або клітини даної специфічності.

1. Вакцини - це препарати, отримані з бактерій, вірусів та інших мікроорганізмів, їхніх хімічних компонентів, продуктів життєдіяльності або штучним шляхом, використовувані для активної імунізації людей і тварин з метою профілактики й лікування інфекційних хвороб. Що містять атенуйовані вакцини?

- A. Убиті мікроби й анатоксин
- B. Убиті мікроби
- C. Анатоксин
- D. Живі мікроби
- E. Імуноглобуліни

3. Для проведення профілактичних щеплень у дитячу поліклініку поступили вакцини. Яка з них створює нестерильний імунітет?

- A. Грипозна субодична
- B. АКДП
- C. ДП
- D. Жива протикорова
- E. БЦЖ

2. Відповідно до цільового призначення й принципами виготовлення бактерійні препарати підрозділяються на групи. До якої групи відносяться препарати для створення активного імунітету?

- A. Імунні сироватки
- B. Вакцини
- C. Імуноглобуліни
- D. Моноклональні антитіла
- E. Бактеріофаги

4. Для попередження і лікування інфекційних захворювань часто використовуються профілактично-лікувальні сироватки та імуноглобуліни. Який вид імунітету створюється у людини після введення цих препаратів?

- A. Штучний пасивний імунітет
- B. Природний активний імунітет
- C. Штучний активний імунітет
- D. Природний пасивний імунітет
- E. Видовий спадковий імунітет

Висновки

Імунобіологічні препарати – це велика група лікарських засобів (вакцини, анатоксини, сироватки, імуноглобуліни та інш.), які використовуються для лікування і профілактики багатьох інфекційних захворювань.

Особливість імунобіологічних препаратів - специфічність дії.

Дякую за увагу!

