Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 11:09 +0430 on Monday July 16th 2018

Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2012; 15(63): 26-33

A study of the thermal stability of measles vaccine produced by AIK-C strain

Shayestehpour M(M.Sc)[1], Shahkarami MK(M.Sc)[1], Shafyi A(PhD)[1*], Taqavian M(M.Sc)[1], Kamali-Jamil R(M.Sc)[1], Esna-Ashari F(M.Sc)[1], Mohammadi A(PhD)[1], Shahbazi R(M.Sc)[1]

1- Department of Human Viral Vaccines, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Karaj, Iran

Received: 28 Aug 2011, Accepted: 8 Nov 2011

Abstract

Background: Noticing the sensitivity of measles virus to temperature and light, maintaining its stability is highly important in live vaccines. The aim of the study is to evaluate the stability of measles vaccine produced by AIK-C strain.

Materials and Methods: In this experimental study, three lyophilized vaccine vials were incubated at 37˚C for one week and their stability was evaluated via accelerated test. In addition, reconstituted vaccines were incubated at 4˚C, 25˚C, and 37˚C for 0, 4, 8, 12, 16 hours after reconstitution and their remaining infectious virus titer was measured using CCID50 method. Half-life of the reconstituted measles vaccine was evaluated according to linear regression analysis.

Results: When the reconstituted vaccine was incubated at 4˚C, 25˚C, and 37˚C, the titer loss per hour was equal to 0.05, 0.1 and 0.2 Log_{10} $CCID_{50}$, respectively. Also, the half-life of this vaccine at these temperatures was 5.31, 2.26, and 1.36 hours, respectively.

Conclusion: The loss of potency for measles vaccine produced by AIK-C strain is 0.33 Log after storage at 37°C for one week, while the reported amounts for commercial vaccines such as Mevilin-L, Attenuvax, Edmonston-Zagreb, and Rimevax are 0.7, 0.7, 1 and 0.78, respectively. Lyophilized and reconstituted vaccine containing AIK-C strain is more stable in comparison with Edmonston B, Schwartz, Biken-CAM, and Leningrad strains. The stability of the reconstituted AIK-C strain vaccine is similar to Moraten strain at 37˚C.

Keywords: Half-life, Measles, Vaccine, Virus titer

*Corresponding author:
Address: Department of Human Viral Vaccines, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Karaj, Iran
Email: abbas.shafyi@gmail.com

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 11:09 +0430 on Monday July 16th 2018

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال 15، شماره 4 (شماره پیاپی 63)، شهریور 1391، 33-26

بررسی میزان پایداری دمایی واکسن سرخک تولید شده با سویهAIK-C

محمد شایسته پور[1]، محمدکاظم شاه کرمی[2]، عباس شفیعی[3*]، محمد تقویان[2]، راضیه کمالی جمیل[1]، فاطمه اثنی عشری[2]، اشرف محمدی[4]، رضا شهبازی[1]

1- کارشناس ارشد ویروس شناسی، گروه واکسن‌های ویروسی پزشکی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی کرج، کرج، ایران
2- مربی، گروه واکسن‌های ویروسی پزشکی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی کرج، کرج، ایران
3- استاد، گروه واکسن‌های ویروسی پزشکی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی کرج، کرج، ایران
4- استادیار، گروه واکسن‌های ویروسی پزشکی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی کرج، کرج، ایران

تاریخ دریافت: 90/6/7تاریخ پذیرش: 90/8/18

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به حساسیت ویروس سرخک به دما و نور، حفظ پایداری آن در واکسن زنده بسیار با اهمیت است. هدف این تحقیق، بررسی پایداری واکسن سرخک تولید شده با سویه AIK-C می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، 3 ویال واکسن لیوفیلیز به مدت 1 هفته در دمای 37 درجه سانتی‌گراد نگهداری و میزان پایداری آن به روش آزمون تسریع شده بررسی گردید. هم‌چنین واکسن محلول شده در دماهای 4، 25 و 37 درجه سانتی‌گراد نگهداری و در زمان‌های 0 ،4، 8 ،12و 16 ساعت پس از محلول کردن، میزان باقیمانده ویروس عفونی به روش میکروتیتراسیون با محاسبه $CCID_{50}$ ارزیابی شد. بر اساس آنالیز رگرسیون خطی، نیمه عمر واکسن محلول شده سرخک، محاسبه گردید.

یافته‌ها: وقتی واکسن محلول شده در دماهای 4، 25 و 37 درجه سانتی‌گراد نگهداری شد کاهش تیتر واکسن به ترتیب 0/05، 0/1 و 0/2 Log_{10} $CCID_{50}$ در ساعت بود. هم‌چنین نیمه عمر این واکسن در دماهای مذکور، به ترتیب 5/31، 2/61 و 1/36 ساعت بود.

نتیجه‌گیری: میزان کاهش تیتر واکسن سرخک تهیه شده با سویه AIK-C پس از نگهداری در دمای 37 درجه سانتی‌گراد به مدت یک هفته 0/33 log بود در حالی که برای واکسن‌های تجاری Mevilin-L، Attenuvax، Edmonston- Zagreb وRimevax، به ترتیب 0/7، 0/7، 1 و 0/78 گزارش شده است. واکسن لیوفیلیز و محلول شده حاوی سویه AIK-C در مقایسه با سویه‌های ادمونستون ب، شوارتز، بکن کام و لنینگراد پایدارتر است در حالی که در حالت محلول شده و در دمای 37 درجه سانتی‌گراد میزان پایداری مشابه سویه موراتن دارد.

واژگان کلیدی: نیمه عمر، سرخک، واکسن، تیتر ویروس

***نویسنده مسئول:** بخش واکسن های ویروسی پزشکی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی کرج، ایران
Email: abbas.shafyi@gmail.com

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 11:09 +0430 on Monday July 16th 2018

مقدمه

سرخک یک بیماری ویروسی واگیردار می‌باشد که میزان مرگ و میر ناشی از آن در فاصله سال‌های 2000 تا 2008 به میزان 78 درصد کاهش یافته است(1). ریشه‌کنی این بیماری یکی از اهداف مهم سازمان بهداشت جهانی است. در راستای تحقق این هدف، استفاده از واکسیناسیون، بهترین و کاربردی‌ترین روش می‌باشد(2). با توجه به حساسیت ویروس سرخک به دما و نور، حفظ پایداری آن در واکسن زنده بسیار مهم و در کیفیت واکسن‌های تولیدی تاثیرگذار می‌باشد(3). بر اساس توصیه سازمان بهداشت جهانی، واکسن زنده سرخک از نظر پایداری دمایی باید دارای دو شرط باشد: اول این که پس از نگهداری واکسن لیوفیلیز به مدت 1 هفته در دمای 37 درجه سانتی‌گراد حداقل 1000 پارتیکل عفونی زنده در هر دوز واکسن وجود داشته باشد و دوم این که میزان افت تیتر واکسن در پایان روز هفتم نگهداری در 37 درجه سانتی‌گراد کمتر از $CCID_{50}$ (cell culture infective dose 50) /dose $\log_{10}$ 1 باشد(4). رطوبت نهایی واکسن پس از لیوفیلیزاسیون، ترکیب پایدارکننده موجود در واکسن، سویه واکسن و شرایط نگهداری از جمله عواملی هستندکه در پایداری دمایی واکسن موثر می‌باشند(5، 6).

ادمونستون B اولین سویه تخفیف حدت یافته ویروس سرخک بود که در سال 1963 در تولید واکسن مورد استفاده قرارگرفت(7). به دنبال آن سویه‌های واکسینال دیگری از طریق پاساژهای متوالی درکشت سلولی حاصل شد. بکن کام، شانگ‌های، لنینگراد، ادمونستون زاگرب، شوارتز، موراتن و AIK-C از جمله مهم‌ترین سویه‌های واکسن سرخک هستند(3). AIK-C سویه تخفیف حدت یافته‌ای است که از سویه بیماری‌زای ادمونستون‌آمریکا با همکاری موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی ایران و موسسه کیتازاتو ژاپن تهیه شده است(8). سویه‌های مختلف از نظر ایمن‌زایی، عوارض پس از واکسیناسیون و پایداری دمایی متفاوت هستند بنابر این کیفیت واکسن‌های تولیدی با سویه‌های مذکور یکسان نیست(3).

اگرچه در زمینه پایداری دمایی سویه‌های شوارتز، موراتن، L16، بکن کام و سویه وحشی، تحقیقاتی صورت گرفته و پایداری این واکسن‌ها با یکدیگر مقایسه شده‌اند(4، 9) اما اطلاعاتی در زمینه پایداری سویه AIK-C که از سال 1976 در ژاپن مورد استفاده قرار گرفته و در حال حاضر سویه واکسن مصرفی در ایران می‌باشد، منتشر نشده است(3، 10). بررسی دقیق میزان پایداری دمایی این سویه واکسینال، اطلاعات مفیدی را در مورد پایداری واکسن مصرفی در ایران به دست می‌دهد. حساسیت ویروس سرخک به عواملی از قبیل دما و نور، ضرورت توجه ویژه به شرایط خاص در حمل و نگهداری این واکسن را موجب می‌گردد. با توجه به گستردگی کشور ایران و تنوع شرایط اقلیمی در شهرها و روستاهای مختلف، در صورت عدم رعایت زنجیره سرد، کارایی واکسن کاهش خواهد یافت. با توجه به امکانات و شرایط متفاوت مراکز بهداشتی درمانی شهرها و روستاهای ایران، حفظ 100 درصد پایداری ویروس موجود در واکسن و متعاقب آن ایمن‌زایی موثر ناشی از آن امری مهم و البته دشوار می‌باشد. لذا آگاهی کامل از جزئیات پایداری دمایی سویه واکسن ارزشمند خواهد بود. بیشتر تحقیقات صورت گرفته در زمینه پایداری واکسن‌ها، به بررسی پایداری واکسن در حالت لیوفیلیز پرداخته است و اطلاعات کمی در مورد پایداری دمایی واکسن‌ها پس از محلول کردن‌آنها در دسترس است(11). واکسن 10 دوزی سرخک پس از محلول شدن به دلیل استفاده برای 10 نفر، برای مدتی در حالت محلول شده نگهداری می‌شود. بر اساس توصیه سازمان بهداشت جهانی و شرکت‌های سازنده واکسن‌ها، ویال‌های محلول شده را فقط می‌توان به مدت 8-6 ساعت در دمای4 درجه سانتی‌گراد نگهداری کرد زیرا پس از محلول سازی تیتر واکسن به سرعت افت کرده و احتمال آلودگی آن نیز بیشتر می‌شود(12). در این پژوهش سعی بر آن است تا علاوه بر بررسی پایداری واکسن سرخک (سویه AIK-C) در حالت لیوفیلیز، میزان پایداری دمایی آن در طول چند ساعت پس از محلول کردن نیز سنجیده شود.

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 11:09 +0430 on Monday July 16th 2018

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی، جهت کشت سویه AIK-C سرخک، سلول‌های دیپلوئید انسانی(MRC-5) در فلاسک کشت سلولی به صورت تک لایه ای کشت داده شد. سپس سلول‌ها توسط محیط 199 (شرکت سیگما) چند بار شستشو داده شده و سویه AIK-C ویروس سرخک با MOI(Moltiplicity of Infection) 1 به 10 به سلول‌ها اضافه شد. فلاسک‌ها در محیط تاریک و دمای 33 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. با مشاهده حدود هفتاد درصد اثرات سایتوپاتیک (cytopathic effect- CPE)، در روز هشتم پس از تلقیح، فلاسک‌ها به مدت 12 ساعت در دمای 4 درجه سانتی‌گراد قرارگرفت. سپس ویروس برداشت شد و تا زمان مصرف در دمای 70- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

لازم به ذکر است به دلیل این که ویروس به همراه سلول‌های دیپلوئید برداشت شد برای جداسازی بقایای سلولی قبل از تهیه بالک، ویروس برداشتی به مدت 30 دقیقه در دمای 4 درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد.

تهیه بالک واکسن و لیو فیلیزاسیون

ویروس‌های برداشت شده به نسبت مساوی(1:1) با پایدارکننده مخلوط شد و جهت تعیین میزان تیتر ویروس زنده قبل از لیوفیلیزاسیون، نمونه‌برداری گردید. پس از سانتریفیوژ کردن، بالک تهیه شده در ویال‌های شیشه‌ای تیره رنگ تقسیم شد. ویال‌های واکسن در دمای 50- درجه سانتی‌گراد درون لیوفیلیزاتور بارگذاری شد و توسط یک برنامه 48 ساعته لیوفیلیزگردید. در پایان، واکسن‌ها به وسیله پوشش آلومینیومی پوشانده شده و تا زمان استفاده در دمای 70- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

برای ارزیابی پایداری واکسن به روش Accelerated Test، 3 ویال واکسن در حالت لیوفیلیز به مدت یک هفته درگرم‌خانه 37 درجه سانتی‌گراد و در شرایط بدون نور قرار داده شد. هم‌چنین 3 ویال در فریزر20- درجه سانتی‌گراد قرار گرفت سپس واکسن‌ها توسط1 میلی‌لیترآب مقطر، محلول شده و عیار آنها به روش میکروتیتراسیون و محاسبه $CCID_{50}$ اندازه‌گیری شد.

جهت بررسی پایداری واکسن در حالت محلول شده (Reconstituted)، ویال‌های واکسن لیوفیلیز درآب مقطر استریل به حالت محلول درآورده شده و به صورت جداگانه در دماهای 4، 25 و 37 درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس به فاصله زمانی 4 ساعت از زمان محلول کردن (0، 4، 8، 12 و16 ساعت پس از محلول کردن) نمونه‌برداری شد. نمونه‌های برداشت شده تا زمان اندازه‌گیری تیتر ویروس، در فریزر 70- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

عیار سنجی به روش میکروتیتراسیون

جهت انجام آزمون عیار سنجی، پلیت کشت سلولی 96 خانه‌ای مورد استفاده قرار گرفت. به همه چاهک‌ها به میزان 50 میکرولیتر و در چاهک‌های کنترل 100 میکرولیتر از محیط DMEM (شرکت مرک) حاوی 2 درصد سرم گوساله اضافه شد. سپس 100 میکرولیتر سوسپانسیون سلولی Vero (2×10^5سلول در هر میلی‌لیتر) و به میزان 50 میکرولیتر از رقت‌های سریالی ویروس(10^{-1} تا 10^{-5}) به چاهک‌ها اضافه شد. لازم به ذکر است که برای هر رقت 4 خانه از پلیت در نظرگرفته شد. چاهک‌های کنترل حاوی ویروس نبوده و به جای ویروس، 50 میکرولیتر محیط DMEM دارند. پس از آماده سازی پلیت، روی آن به وسیله چسب میکروپلیت پوشانده شده و درب آن بسته شد.

پلیت را در انکوباتور 37 درجه سانتی‌گراد حاوی 4-5 درصد دی اکسیدکربن قرار داده و پس از گذشت 10 روز نتایج ایجاد CPE در چاهک‌ها ثبت گردید. برای محاسبه میزان ویروس عفونی باقی مانده در واکسن‌ها، $CCID_{50}$ با استفاده از فرمول کربر محاسبه شد:

$L = Log_{10} CCID_{50} = L - d (S-0.5)$ بیشترین غلظتی از ویروس که در تست به کار رفته است، d= فاصله لگاریتمی بین رقتها و S = مجموع نسبت‌های مثبت.

در پایان با استفاده از نرم افزار آماری Sigma Plot نسخه 11 نتایج حاصل ارزیابی شد و با استفاده از

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 11:09 +0430 on Monday July 16th 2018

روش رگرسیون خطی، سرعت کاهش تیتر واکسن و نیمه عمر محاسبه گردید.

یافته‌ها

میانگین مقدار رطوبت باقی مانده در واکسن لیوفیلیزه با استفاده از روش کارل فیشر، 2/8 درصد اندازه گیری شد.

نتایج بررسی تیتر ویروس در مرحله قبل و پس از لیوفیلیزاسیون نشان دادکه در طول مرحله لیوفیلیزاسیون، تیتر ویروس موجود در واکسن به میزان $0/25\ \log_{10}\ CCID_{50}$ کاهش می‌یابد.

عیار سنجی واکسن به روش آزمون تسریع شده

پس از نگهداری واکسن در دمای 37 درجه سانتی‌گراد به مدت یک هفته، تیتر آن به میزان $\log_{10}$ $0/33\ CCID_{50}$ کاهش یافت که از نظر استانداردهای سازمان بهداشت جهانی مطلوب است.

پایداری دمایی واکسن محلول شده

میزان باقیمانده ویروس عفونی موجود در واکسن در ساعات مختلف پس از محلول کردن، با محاسبه $CCID_{50}$ ارزیابی شد(جدول1). تیتر ویروس AIK-C موجود در واکسن سرخک در دماهای 4، 25 و 37 درجه سانتی‌گراد به ترتیب در مدت زمان 23، 10/8 و 3/8 ساعت به $3\ \log_{10}\ CCID_{50}$ /dose کاهش یافت و براساس توصیه سازمان بهداشت جهانی فقط در طول زمان‌های ذکرشده استفاده از واکسن مجاز است.

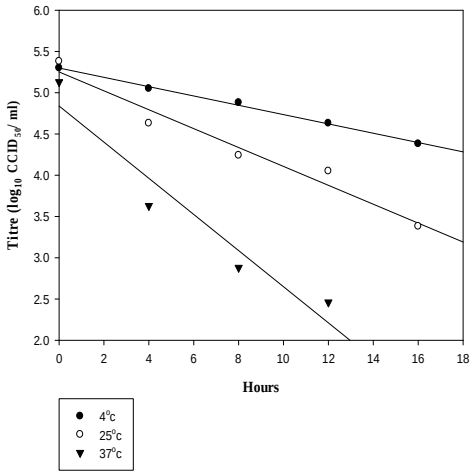
نتایج حاصل نشان داد که سرعت کاهش تیتر ویروس در واکسن، پس از محلول کردن و نگهداری آن در سه دمای 4، 25 و 37 درجه سانتی‌گراد به ترتیب 0/0565، 0/115و 0/219 در ساعت است(نمودار 1).

بر اساس معادله رگرسیونی حاصل از نتایج، مدت زمان کاهش تیتر واکسن به نصف مقدار اولیه برای واکسن محلول شده سرخک (سویه AIK-C) محاسبه شد که نشان دهنده میزان پایداری دمایی آن در دماهای مختلف می‌باشد(جدول 2).

جدول 1. نتایج تیتراسیون واکسن سرخک (AIK-C) پس از محلول سازی و نگهداری در دماهای 4°C، 25°C، 37°C

نگهداری واکسن در 37°C	نگهداری واکسن در 25°C	نگهداری واکسن در 4°C	ساعت پس از محلول کردن
5/13±0/14	5/38±0/38	5/3±0/25	0
3/63±0/29	4/63±0/38	5/05±0/25	4
2/88±0/38	4/24±0/29	4/88±0/14	8
2/46±0/29	4/05±0/25	4/63±0/14	12
اندازه گیری نشده	3/38±0/14	4/38±0/14	16

* میانگین تیتر 3 ویال به صورت $\log_{10}CCID_{50}$/ml گزارش شده است



نمودار 1. نمودار رگرسیونی واکسن محلول شده سرخک (AIK-C) در دماهای 4°C، 25°C، 37°C

جدول 2. محاسبات رگرسیون خطی و محاسبه میزان افت تیتر واکسن سرخک (AIK-C) پس از محلول کردن

نیمه عمر (ساعت)	معادله رگرسیون	سرعت کاهش تیتر در ساعت	ضریب همبستگی(R)	دما (°C)
5/31	y = 5/30 – 0/0565 x	0/0565 log	0/998	4
2/61	y = 5/252 – 0/115 x	0/115 log	0/981	25
1/36	y = 4/839 – 0/219 x	0/219 log	0/963	37

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 11:09 +0430 on Monday July 16th 2018

بحث

میزان کاهش تیتر ویروس در طول مراحل لیوفیلیزاسیون به عواملی مانند پایداری دمایی سویه وکاربرد پایدارکننده وابسته است. تحقیقات قبلی نشان داده است که برای تولید واکسن حاوی سویه ادمونستون، در طول مرحله لیوفیلیزاسیون افت تیتری در حدود 0/5 تا log 0/75 $CCID_{50}$/ml وجود داشته است(13) در حالی که، کاهش تیتر واکسن AIK-C در طول مرحله لیوفیلیزاسیون 0/25 است که نشان دهنده پایداری بیشتر واکسن حاوی سویه AIK-C در طی مراحل لیوفیلیزاسیون یعنی سرما و خلاء است. البته متفاوت بودن برنامه لیوفیلیزاسیون و نوع پایدارکننده نیز در این اختلاف نتایج دخیل هستند.

ویروس سرخک به نور و دما حساس بوده و در اثر مواجهه با این عوامل به مرور عفونت‌زایی و پایداری خود را از دست می‌دهد(3). حساسیت این ویروس به دما به نحوی است که با افزایش دمای محیط، سرعت غیرفعال شدن ویروس افزایش می‌یابد(14). با توجه به این موضوع، جهت حفظ پایداری ویروس در واکسن، از روش خشک کردن در شرایط خلاء و سرما استفاده شد و تولید واکسن‌های لیوفیلیز سرخک رواج یافت(11). اما در مورد واکسن های لیوفیلیز چند نکته حائز اهمیت است. اول این که در جریان مراحل لیوفیلیزاسیون مقداری از ویروس‌های زنده غیر فعال می‌شوند و دوم این که جهت مصرف واکسن باید آن را توسط حلال مناسب محلول کرد که استفاده از واکسن‌های چند دوزی، عدم مصرف سریع و نگهداری پس از محلول کردن، باعث کاهش تدریجی تیتر ویروس موجود در واکسن می‌گردد(12).

نتایج بررسی سویه وحشی سرخک نشان داده است که ویروس در محلول آبی و در دمای 37 درجه سانتی‌گراد طی 2 ساعت حدود 90 درصد از عفونت‌زایی خود را از دست می‌دهد(15). بلاک در سال 1959 بر روی پایداری سویه ادمونستون تحقیقاتی را انجام داد. او در دو آزمایش به بررسی پایداری دمایی ویروس پرداخت که نتیجه یک آزمایش را با نیمه عمر 2 ساعت و سرعت کاهش تیتر log 0/15 در ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد گزارش کرد اما نتیجه آزمایش دیگر متفاوت بود به نحوی که سرعت افت تیتر در این دما، log 0/3 در ساعت بود(14). اما در مطالعاتی که پس از آن صورت گرفت، سرعت کاهش عفونت‌زایی سویه ادمونستون را در دمای 37 درجه سانتی‌گراد بیش از log 0/15 و نیمه عمرآن را کمتر از 2 ساعت عنوان کرده‌اند(16). نیمه عمر واکسن سویه AIK-C نیز در دمای 37 درجه سانتی‌گراد کمتر از 2 ساعت می‌باشد با این وجود پایداری آن از سویه ادمونستون بیشتر است.

همه مطالعات قبلی بر این نکته اتفاق نظر دارند که با افزایش دما سرعت غیرفعال شدن ویروس موجود در واکسن محلول شده زیادتر می‌شود(11، 13). پژوهش حاضر، نتیجه تحقیقات قبلی را تأیید می‌کند زیرا سرعت کاهش تیتر واکسن AIK-C در دماهای 4 درجه سانتی‌گراد، 25 درجه سانتی‌گراد و 37 درجه سانتی‌گراد به ترتیب حدود 0/05، 0/1 وlog 0/2 در ساعت بود.

سویه‌های واکسینال سرخک از نظر پایداری دمایی با هم تفاو ت دارند(9). بر اساس تحقیقات انجام شده، میزان افت تیتر سویه‌های ادمونستون، شوارتز وL16 پس از نگهداری به مدت یک هفته در دمای 37 درجه سانتی‌گراد به ترتیب 2، 1/6 و Log 1گزارش شده است. هم‌چنین میزان کاهش تیتر واکسن‌های تجاری Mevilin-L ، Attenuvax ، Edmonston- Zagreb وRimevax در این شرایط به ترتیب 0/7، ۰،۱/7 وLog 0/78 ذکر گردیده است(4) در حالی که میزان افت تیتر واکسن حاوی سویه AIK-C حدود0/33 می‌باشدکه نسبت به واکسن‌های ذکر شده کاهش تیتر کمتری را نشان می‌دهد. بنابر این واکسن AIK-C در مقایسه با واکسن‌های تجاری ذکر شده، در دمای 37 درجه سانتی‌گراد نیمه عمر بیشتری داشته و پایدارتر است.

در معدود گزارشاتی که در زمینه پایداری دمایی واکسن‌های سرخک پس از محلول شدن آنها وجود دارد پایداری سویه لنینگراد در دماهای 4، 25 و37 درجه سانتی‌گراد (در حالت محلول شده) به ترتیب 16 ،24 و 7

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 11:09 +0430 on Monday July 16th 2018

ساعت ذکر شده است(17). براساس تحقیق صورت گرفته بر روی سویه بکن کام، بعد از محلول کردن واکسن لیوفیلیز و نگهداری در دماهای 28 درجه سانتی‌گراد، 36/5 درجه سانتی‌گراد و45 درجه سانتی‌گراد به ترتیب در مدت 7 ساعت، 3 ساعت وکمتر از یک ساعت، افت تیتری در حدود $1\ \log_{10}CCID_{50}/dose$ وجود دارد(9). اما نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهندکه میزان کاهش تیتر ذکر شده در دو دمای 25 و 37 درجه سانتی‌گراد برای سویه AIK-C به ترتیب 16 و 7/30 ساعت است که مشخص کننده پایداری بیشتر سویه AIK-C نسبت به سویه بکن کام است. هم‌چنین افت تیتر سویه موراتن در دمای 37 درجه سانتی‌گراد در مدت 7 ساعت پس از محلول کردن 2 log است(18) که سویه AIK-C نیز دارای افت تیتر مشابهی در دمای ذکر شده می‌باشد.

با توجه به استفاده از سلول‌های Vero و پاساژهای مکرر، یکی از محدودیت‌های تحقیق حاضر تفاوت احتمالی نتایج تیتراسیون در روزهای کاری متفاوت بود. برای رفع این محدودیت از راهکارهایی استفاده شد:که شامل موارد ذیل بوده است. سعی برآن بود تا از پاساژ سلولی یکسان برای انجام تیتراسیون در روزهای مختلف کاری استفاده شود. در کنار تیتراسیون نمونه‌های مورد آزمایش در هر روز کاری، از واکسن با تیتر مشخص به عنوان استاندارد داخلی جهت اطمینان از صحت نتایج استفاده شد. و هم‌چنین برای هر آزمایش 3 ویال به صورت جداگانه و در روزهای مختلف تیتر شد و نتایج به صورت میانگین گزارش گردید.

نتیجه گیری

واکسن لیوفیلیز حاوی سویه AIK-C در مقایسه با سویه‌های ادمونستون B، شوارتز و لنینگراد پایدارتر است. هم‌چنین این واکسن در حالت محلول شده نسبت به سویه‌های بکن کام، ادمونستون و لنینگراد نیمه عمر بیشتری داشته و از پایداری دمایی بالاتری برخوردار است در حالی که در دمای 37 درجه سانتی‌گراد میزان پایداری مشابه سویه موراتن را دارد، بنابر این می‌تواند از اثر بخشی بیشتری درمقایسه با واکسن های مشابه خارجی برخوردار باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله، حاصل نتایج بخشی از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد ویروس شناسی پزشکی با عنوان بررسی اثر دو پایدارکننده حاوی TD و SSG بر پایداری دمایی واکسن سرخک است که در موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی به انجام رسیده است. بدین وسیله از زحمات ریاست و همه همکاران محترم بخش واکسن های ویروسی پزشکی موسسه رازی تشکر و قدردانی می‌نماییم.

منابع

1. Dabbagh A, Gacic-Dobo M, Simons E, Featherstone D, Strebel P, Okwo-Bele J, et al. Global measles mortality, 2000–2008. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2009;58:1321-6.
2. WHO. Programmatic Feasibility of Measles Elimination. World Health Organization Eastern Mediterranean Region. June 2010. Available from: http://www.who.int/immunization/sage/EMRO_Programatic_feasability_measles_elimination_2010_final.pdf.
3. Plotkin S, Orenstein W, Offit P. Vaccines Saunders. Philadelphia, PA. 2008.
4. Ohtake S, Martin RA, Yee L, Chen D, Kristensen DD, Lechuga-Ballesteros D, et al. Heat-stable measles vaccine produced by spray drying. Vaccine. 2010;28(5):1275-84.
5. Shahkarami M, Taqavian M, Shafyi A, Alirezaie B, Esna-ashari F, Soleimani S, et al. Investigation of the Relationship between the Residual Moisture and Thermal Stability of Lyophilized MMR Vaccine. Iranian Journal of virology. 2010; 3(1): 22-5.
6. Kissmann J, Ausar SF, Rudolph A, Braun C, Cape SP, Sievers RE, et al. Stabilization of measles virus for vaccine formulation. Hum Vaccin. 2008;4(5):350-9.
7. Griffin DE, Oldstone MBA. Measles: pathogenesis and control: Springer Verlag; 2008.
8. Makino S. Development and characteristics of live AIK-C measles virus vaccine: a brief report. Review of Infectious Diseases. 1983; 5(3): 504.

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 11:09 +0430 on Monday July 16th 2018

9. deRizzo E, Pereira CA, Fang FL, Takata CS, Tenório EC, Pral MM, Mendes IF, Gallina NM. Photosensitivity and stability of freeze-dried and/or reconstituted measles vaccines (Biken CAM-70 strain). Rev Saude Publica. 1990; 24(1): 51-9.
10. Mirchamsy H, Shafyi A, Nazari P, Ashtiani M, Sassani A. Evaluation of live attenuated measles vaccines prepared in human diploid cells for reimmunization. Epidemiology and infection London, New York NY. 1988; 101(2): 437-43.
11. Galazka A, Milstien J, Zaffran M. Thermostability of Vaccines: Global Programme for Vaccines and Immunization. World Health Organization Geneva. 1998.
12. Arya SC, Agarwal N. Efficacy of measles vaccine interlinked with potency and storage. Acta tropica. 2004;90(2):223-5.
13. Goldner H, Buynak E, Hilleman M. Infectivity Stability of Live Measles-Virus Vaccine. Archives of Pediatrics and Adolescent Medicine. 1962;103(3):440.
14. Black FL. Growth and stability of measles virus. Virology. 1959;7(2):184-92.
15. Rapp F, Butel JS, Wallis C. Protection of measles virus by sulfate ions against thermal inactivation. Journal of bacteriology. 1965; 90(1): 132-5.
16. Musser SJ, Underwood GE, Weed SD, Ossewaarde J. Studies on measles virus. The Journal of Immunology. 1960;85(3):292.
17. Melnick J. Thermostability of poliovirus and measles vaccines. Developments in biological standardization. 1996; 87:155.
18. Klamm H, Pollex G, Henning U. Thermal inactivation of different measles virus strains. Acta virologica. 1991;35(2):200-2.