МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій

Кафедра біотехнології, шкіри та хутра

Дипломна магістерська робота

на тему **Формування етапів сертифікації вакцини проти гепатиту В на фармацевтичному підприємстві**

Виконав: студент *2* курсу, групи *МгЗБТ-20*
спеціальності *162 Біотехнології та біоінженерія* освітньої програми *Біотехнологія високомолекулярних сполук*
Ксенія КРЕСАН
Керівник *к.т.н., доц. Ірина ВОЛОШИНА*
Рецензент *доцент кафедри біотехнології, шкіри та хутра, к.б.н. Ольга ЮНГІН*

Київ 2021

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет *хімічних та біофармацевтичних технологій*
Кафедра *біотехнології, шкіри та хутра*
Спеціальність *162 Біотехнології та біоінженерія*
Освітня програма *Біотехнологія високомолекулярних сполук*

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри_____

д.т.н., проф. Олена МОКРОУСОВА
«___» грудня 2021 року

ЗАВДАННЯ

НА ДИПЛОМНУ МАГІСТЕРСЬКУ РОБОТУ СТУДЕНТЦІ

Кресан Ксенії Михайлівні

1. Тема роботи: **Формування етапів сертифікації вакцини проти гепатиту В на фармацевтичному підприємстві**

науковий керівник роботи *к.т.н., доц. Ірина ВОЛОШИНА*
затверджені наказом вищого навчального закладу від
«*04*» *жовтня 2021* року № 286.

2. Строк подання студентом роботи _____

3. Вихідні дані до роботи: *завдання на дипломну магістерську роботу; наукова література щодо гепатиту, характеристика вакцини проти гепатиту В; особливості виробництва вакцини в асептичних умовах; технологічна блок-схема виробництва вакцини проти гепатиту В; матеріали науково-дослідної та переддипломної практик*

4. Зміст дипломної роботи:
огляд літератури; технологічна частина; сертифікація вакцини гепатиту В; висновки; список використаних джерел; додатки

5. **Консультанти розділів дипломної магістерської роботи**

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Розділ 1	*Ірина ВОЛОШИНА доцент кафедри біотехнології, шкіри та хутра*	04.10.2021	30.10.2021
Розділ 2	*Ірина ВОЛОШИНА доцент кафедри біотехнології, шкіри та хутра*	04.10.2021	20.11.2021
Розділ 3	*Ірина ВОЛОШИНА доцент кафедри біотехнології, шкіри та хутра*	04.10.2021	01.12.2021

6. **Дата видачі завдання** *04.10.2021 р.*

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів дипломної магістерської роботи	Терміни виконання етапів	Примітка про виконання
1	Вступ	16.10.2021	
2	Розділ 1 Огляд літератури	30.10.2021	
3	Розділ 2 Технологічна частина	10.11.2021	
4	Розділ 3 Сертифікація вакцини Гепатиту В	20.11.2021	
5	Висновки	22.11.2021	
6	Оформлення дипломної магістерської роботи	25.11.2021	
7	Подання дипломного дипломної магістерської роботи на кафедру для рецензування	01.12.2021	
8	Перевірка дипломної магістерської роботи у на наявність ознак плагіату	06.12.2021	
9	Подання дипломної магістерської роботи у відділ магістратури для перевірки виконання індивідуального навчального плану		
10	Подання дипломної магістерської роботи на затвердження завідувачу кафедри		

Студент _____ *Ксенія КРЕСАН*

Науковий керівник роботи _____ *Ірина ВОЛОШИНА*

Директор НМЦУПФ _____ *Олена ГРИРОРЕВСЬКА*

АНОТАЦІЯ

Кресан К.М. Формування етапів сертифікації вакцини проти гепатиту В на фармацевтичному підприємстві. – Рукопис.

Дипломну магістерську роботу присвячено вивченню вакцини проти гепатиту В на фармацевтичному підприємстві, практичного застосування у сфері охорони здоров'я.

У дипломній роботі обґрунтовано технологію виробництва вакцини проти гепатиту В. Представлено технологічну блок-схему виробництва, яка передбачає стадії вирощування і виділення цільового продукту та отримання концентрату HBsAg. Обґрунтовано вибір технологічного обладнання для реалізації виробництва.

Дипломна робота включає біотехнологічні аспекти отримання вакцини проти гепатиту В та методики контролю стадій його виробництва.

Ключові слова: HBsAg, поліпептид, імуноген, властивості вакцини проти гепатиту В, біосинтез, контроль якості.

ABSTRACT

Kresan K. M. Formation of stages of hepatitis B vaccine certification at a pharmaceutical company. – Manuscript.

Master's thesis in specialty 162 – Biotechnology and Bioengineering. - Kyiv National University of Technology and Design, Kyiv, 2021.

The thesis substantiates the technology of production of hepatitis B vaccine. The technological block diagram of production is presented, which provides for the stages of growing and isolation of the target product and obtaining HBsAg concentrate. The choice of technological equipment for the realization of production is substantiated.

Thesis includes biotechnological aspects of obtaining hepatitis B vaccine and methods of controlling the stages of its production.

Key words: HBsAg , polypeptide, immunogen, properties of hepatitis B vaccine, biosynthesis, quality control.

ЗМІСТ

ВСТУП 8
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ 11
1.1. Основна характеристика захворювання на гепатит В 11
1.2. Розробка вакцини проти гепатиту В 14
1.3. Введення вакцини проти гепатиту В 18
1.4. Імуногенність та безпека вакцини проти гепатиту В 18
1.5. Здійснення універсальної вакцинації проти гепатиту В 20
1.6. Вплив універсальної вакцинації проти гепатиту В на інфекцію HBV 25
Висновки до розділу 1 29
РОЗДІЛ 2. ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА 31
2.1. Характеристика антигену вірусу гепатиту В (HBsAg) 31
2.2. Характеристика *Saccharomyces cerevisiae* 33
2.3. Обґрунтування способу проведення біосинтезу 36
2.4. Обґрунтування способу виділення та очищення 39
2.5. Технологічна блок-схема виробництва вакцини проти гепатиту В. 41
2.6. Опис технологічної схеми 44
Висновки до розділу 2 52
РОЗДІЛ 3. СЕРТИФІКАЦІЯ ВАКЦИНИ ГЕПАТИТУ В 53
3.1. Основна документація для сертифікації вакцини проти гепатиту В 53
3.2. Документи і положення ВООЗ 55
3.3. Контроль якості вакцини проти гепатиту В 59
3.4. Імуногенність, клінічна дієвість і ефективність 67
Висновки до розділу 3 70
ВИСНОВКИ 71
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ 73
ДОДАТКИ 80

ВСТУП

Актуальність теми дослідження. Гепатит В (HBV) є однією з найбільш поширених інфекцій у світі. На сьогоднішній день в світі налічується до 2 мільярдів чоловік, в крові яких можуть бути виявлені серологічні маркери раніше перенесеного ГВ, 350-400 мільйонів чоловік страждають хронічним ГВ, що приводить в 10% випадків до цирозу печінки від яких щорічно помирає 500 000-1 мільйон чоловік.

Основним і практично єдиним засобом захисту людей від захворювання ВГВ є вакцинація. Перших вакцин проти епідеміології та вакцинопрофілактики немає. 2 (81)/2015 88 вакцинопрофілактика гепатиту В, розроблені в 1980 році у Франції та США, представляли собою високоочищений поверхневий антиген (ВГС), виділений з плазми хронічних носіїв вірусу ВГВ.

Однак використання плазмових вакцин не набуло широкого поширення через ймовірність їх зараження вірусом імунодефіциту людини (ВІЛ) та іншими інфекційними агентами. 5 років потому, під керівництвом М. Хіллеман, в 1986 році була розроблена і ліцензована вакцина, отримана методом рекомбінантної технології ДНК, в якій HBsAg був отриманий культурою дріжджових клітин. В даний час більшість країн (Бельгія, Китай, Франція, Росія, Індія, Ізраїль, Японія, Південна Корея, Швейцарія, США, В'єтнам, Індонезія) виробляють ДНК-рекомбінантні вакцини, субстратами яких є дріжджі *Saccharomus cerevisiae, Nansenula rolumorpha, Piscia pastoris* або клітини пересадженої культури СНО. Після очищення препарат адсорбується на гідроксиді алюмінію або іншому ад'ювантi. На відміну від плазми, рекомбінантна технологія гарантує виробництво лікарського засобу, вільного від можливих забруднень людської крові.

Протягом терміну зберігання лікарського засобу основну відповідальність несе власник реєстраційного посвідчення, за його якість, безпеку та дієвість. Проте, уповноважена особа несе відповідальність за кожну серію вироблену та перевірену відповідно до законодавства України, відповідно до реєстраційного посвідчення та відповідно до вимог GMP.

Мінімальні вимоги для сертифікації вакцини:

- Серія та її виробництво обов'язково мають відповідати вимогам реєстраційного посвідчення, та у відповідних випадках мають дозвіл на виведення продукту на ринок;
- Виробництво обов'язково має відповідати GMP;
- Найважливіші процеси виробництва та перевірки пройшли валідацію. Поточні умови та протоколи відповідають специфікаціям;
- Процедури контролю змін установлені та у відповідних випадках правильно проведені;
- Якщо зміни під час отримання реєстраційного посвідчення або надання дозволу на виробництво вимагають офіційного дозволу на випуск, то він має бути наданий;
- Документація, що стосується виробництва та перевірок, має бути повною та містити підписи відповідальних осіб;
- Усі аудити якості мають бути проведені до вимог системи контролю якості;
- Враховані всі можливі особливі випадки.

Мета дослідження полягає в розкритті специфіки сертифікації вакцини проти гепатиту В.

Завданнями дослідження є:

- здійснити огляд літературних джерел;

- здійснити технологічну частину;

- визначити особливості сертифікації вакцини проти гепатиту В.

Об'єкт дослідження – сертифікація вакцини проти гепатиту В.

Предмет дослідження – суспільні відносини у сфері сертифікації вакцини проти гепатиту В.

Апробацію наукових результатів проведено через їх оприлюднення на конференції міжнародного рівня: Міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні проблеми лікування і профілактики захворювань

молодняка», що відбулась у УО «Вітебська ордену «Знак Почета» державна академія ветеринарної медицини» 3-5 листопада 2021 року (Додаток А, Б).

Публікації. Результати досліджень опубліковано у статті за матеріалами міжнародної конференції.

Бібліографія опублікованої роботи:

Кресан К.М., Волошина И.М. Применение комплексной терапии при лечении новорожденных телят, больных диспепсией // Актуальные проблемы лечения и профилактики болезней молодняка: [Электронный ресурс] материалы Международной научно-практической конференции, Витебск, 3 – 5 ноября 2021 г. / УО ВГАВМ; редкол.: Н.И. Гавриченко (гл. ред.) [и др.]. – Витебск: ВГАВМ, 2021, С. 48-52.

Основна частина дипломної магістерської інженерної (теоретично-аналітичної) роботи викладена на 77 сторінках і включає: вступ, три основні розділи, висновки. В роботі представлено список використаних джерел та додатки. Список використаних джерел налічує 64 найменувань. Один додаток, що ілюструє виконання індивідуального плану магістра, представлено на 7 сторінках.

РОЗДІЛ 1
ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Основна характеристика захворювання на гепатит В

Інфекційні хвороби залишаються однією з основних причин інвалідності та смертності у всьому світі. За даними ВООЗ, 24,7% усіх смертей у світі спричинені інфекційною патологією. В останні роки вірусний гепатит став основною не лише медичною, а й соціально-економічною проблемою. На сьогодні, згідно з епідеміологічними дослідженнями, серологічні маркери перенесеної або існуючої інфекції HBV виявляються у 2 мільярдів людей [12]. За різними оцінками, у світі налічується 300-450 мільйонів хронічних носіїв вірусу гепатиту В (ВГВ) [11]. В середньому близько 88% світового населення мешкає в регіонах з високою або середньою поширеністю інфекції ВГВ, і 20-60% з них мають ризик інфікування протягом усього життя [8]. За даними ВООЗ, гепатит В та його ускладнення щорічно вбивають понад мільйон людей у всьому світі.

Відповідно до поширеності гепатиту В серед населення, країни світу поділяються на три регіони: поширеність HBVA> 8% характерна для країн з високою ендемічністю, 2-7% - для країн із середньою ендемічністю, <2% - для країн з низьким рівнем ендемічності. Україна належить до країн із середньою ендемічністю.

Вірус гепатиту В у 50-100 разів небезпечніший за вірус імунодефіциту людини [6]. Єдиним джерелом зараження вірусним гепатитом В (ВГВ) є люди. Шляхи передачі вірусу поділяються на природні та штучні. До природних належать перинатальні та горизонтальні, або так звані гемоконтакти, гемоперкутанні (при тісному побутовому контакті, статеві). Штучні шляхи передачі здійснюються медичними (штучним шляхом) та немедичними (вживання ін'єкційних наркотиків, татуювання, пірсинг тощо) парентеральними втручаннями [7, 12].

У маленьких дітей найбільш актуальними шляхами передачі ВГВ є перинатальний та горизонтальний. Транс - плацентарна передача вірусу від HBvAg-позитивної матері не перевищує 8%. Однак кожна вагітна HBV-позитивна жінка представляє велику небезпеку щодо зараження дитини під час пологів. На сьогоднішній день немає жодних доказів того, що грудне вигодовування збільшує ризик передачі вірусу від матері до дитини.

У заражених вірусом гепатиту В патогени виявляються у всіх рідинах організму. Легкість передачі ВГВ також пов’язана із стійкістю мікроорганізму до зовнішнього середовища: при кімнатній температурі вірус зберігає свою життєздатність від 7 днів до місяця. Інфекційна доза HBV міститься в мікроскопічній краплі біологічної рідини. Для зараження достатньо від 10 до 100 частинок збудника [4].

Результат зараження ВГВ залежить від віку. Гострий гепатит В зустрічається лише у 1% перинатально інфікованих, при зараженні у віці 1-5 років вірогідність розвитку становить 10%, при зараженні в більш старшому віці (після 5 років) - 30%. Чим раніше дитина заразилася вірусом гепатиту В, тим вища ймовірність розвитку хронічної форми інфекції. У разі перинатальної інфекції ймовірність хронічного ВГВ становить 90%, у інфікованих осіб віком до 6 років - 20-50%, у інфікованих осіб у зрілому віці - менше 5% [8].

У переважній більшості випадків ВГВ виникає як прихована інфекція, що супроводжується стійкою вірусемією, тривалою персистенцією ВГВ. Гепатит В часто переходить у хронічну форму, що з роками може призвести до серйозних ускладнень. 25% дорослих, які були інфіковані в дитинстві, помирають від раку печінки або цирозу.

Перебіг хронічного вірусного гепатиту В (ВГС) залежить від клінічної форми захворювання (HBeAg-позитивна або HBeAg-негативна) та віку, в якому сталася інфекція. У дітей з HBeAg-позитивним варіантом ХГВ при перинатальній інфекції імунотолерантна фаза може тривати від 10 до 30 років. При цьому відзначається високий вміст ДНК HBV в крові, нормальний або близький до нормального рівня трансаміназ. Мимовільна сероконверсія HBeAg

до анти-HBeAg відбувається вкрай рідко. При зараженні дітей старшого віку ХГВ є важчим. Прояв хвороби відбувається у віці 30-40 років. Спонтанна сероконверсія виявляється у 8-15% пацієнтів. Чим вищий рівень аланінамінотрансферази (АЛТ), тим частіше відбувається спонтанна сероконверсія. HBeAg-негативний HBV характеризується наявністю HBsAg, ДНК IVU, антитіл до HBeAg, відсутністю самого HBeAg, підвищенням рівня сироваткових трансаміназ та вираженою гістологічною активністю захворювання. Захворювання характеризується прогресуючим перебігом [5].

Для діагностики ВГВ важливі серологічні маркери, які постійно з'являються і зникають при лікуванні інфекції. До них належать: HBsAg, анти-HBs, HBcAg, анти-HBc Ig M, анти-HBs. Слід зазначити, що виявлення HBsAg як визначального маркера інфекції HBV в даний час є абсолютно недостатнім. Численні дослідження показали, що циркуляція HBsAg в крові не є постійною, цей маркер не виявляється під час «серологічного вікна», може бути «замаскований» в імунних комплексах і не визначається сучасними тестовими системами для імуноферментного аналізу при зараженні мутантними штамами збудника. Єдиним ідентифікованим серологічним маркером інфекції HBV є виділені антитіла до кортикального антигену збудника (HBcAg). Анти-ВГВ виявляються у всіх осіб, які коли-небудь інфікувались. Цей показник дозволяє оцінити поширеність ВГВ серед популяції.

Хронічна інфекція вірусом гепатиту В (ВГВ) є серйозною проблемою для здоров'я. Хоча противірусні засоби проти ВГВ широко застосовуються для лікування хронічного гепатиту В, препарати не можуть повністю усунути вірус у господаря. Вакцинація проти гепатиту В є найважливішою стратегією боротьби з ВГВ-інфекцією. Відкриття «австралійського антигену» в 1964 р, який був позначений як «гепатит асоційований антиген» в 1969 р і назва була формально змінена на поверхневий антиген гепатиту В (HBsAg) в 1972 р після візуалізації частинок Дейна (HBV віріонів) з електронним мікроскопом в 1970 році відкрили шлях до розробки вакцини проти гепатиту В.

Вакцинація проти гепатиту В є найефективнішою стратегією боротьби з ВГВ-інфекцією. Перша ліцензована вакцина проти гепатиту В була розроблена очищенням поверхневого антигену гепатиту В (HBsAg) із плазми безсимптомних носіїв HBsAg. Потім технологія рекомбінантної ДНК дозволила розробити рекомбінантну вакцину проти гепатиту В. Серія з трьох доз вакцини може забезпечити довгостроковий захист більше 30 років. Одночасне застосування імуноглобуліну проти гепатиту В та вакцини проти гепатиту В суттєво зменшило передачу ВГВ від матері до дитини, забезпечило майже нульову кількість інфекції у дітей матері-носія з негативним антигеном гепатиту В (HBeAg) та 5–10% інфекції у дітей HBeAg-позитивних матерів. В кінці 2018 року 189 країн прийняли універсальну програму вакцинації проти гепатиту В, що різко знизило загальну поширеність HBsAg у дітей віком до 5 років, з 4,7% у довакцинну еру до 1,3% у 2015 році. Однак, в усіх регіонах впровадження універсальної вакцинації проти гепатиту В є неоптимальним і не застосовується регулярно більш ніж у половини новонароджених. Оптимальна в усьому світі універсальна вакцинація проти гепатиту В вимагає більших зусиль для подолання соціальних та економічних проблем.

1.2 Розробка вакцини проти гепатиту В

З використанням електронної мікроскопії було виявлено, що 22-нм сферичні частинки (HBsAg) у циркуляції носіїв HBV значно перевищують 42-нм віріони HBV, а концентрація циркулюючого HBsAg досягає 200 мкг / мл. [27] HBsAg, очищений із плазми безсимптомних носіїв, був широко вивчений для розробки вакцини проти гепатиту В.

ВГВ не може ефективно розмножуватися в клітинних культурах, що вказує на те, що неможливо розробити вакцину проти гепатиту В на основі системи культури *in vitro*. Доктор Кругман та його колеги провели новаторську роботу з розробки вакцини проти гепатиту В. Вони показали, що кип'ятіння знищує інфекційність плазми носіїв гепатиту В, активну імунізацію осіб антитілами, індукованими кип'яченою плазмою, проти HBsAg (анти-HBs), а

імунізовані особи частково захищені від вірусу гепатиту та імуноглобуліну гепатиту В (HBIG). Ці дослідження продемонстрували можливість вірусних антигенів, що природним чином виробляються у носіїв ВГВ, при розробці вакцини проти гепатиту В [35].

Очищення плазми HBsAg, як правило, включало ізопікнічне смуговий та швидкісний зональний поділ ультрацентрифугуванням, хімічні процедури очищення та обробку очищеного HBsAg формаліном для усунення потенційного зараження HBV. Шимпанзе, імунізовані очищеним HBsAg, були захищені від зараження HBV [19]. Оскільки вакцина-кандидат була отримана з плазми носіїв ВГВ, які, ймовірно, були коінфіковані іншими патогенами, такими як ВІЛ, підготовка вакцини проти гепатиту В, що походить із плазми крові, складалася з ряду етапів, які можуть виключити та знищити всі відомі віруси тварин. потім її тестували, включаючи ультрацентрифугування, перетравлення частково очищеного HBsAg пепсином при pH 2, розгортання HBsAg у 8 М розчині сечовини з наступною ренатурацією, гель-фільтрацією, обробкою очищеного HBsAg у формаліні [26].

Широкі дослідження підтвердили безпеку та високу ефективність вакцини проти гепатиту В у профілактиці гострого гепатиту В, безсимптомної інфекції та хронічного носія ВГВ [42], що призвело до виготовлення першої ліцензованої вакцини в США в листопаді 1981 р., а у Франції в 1982 році. Ліцензована плазми вакцина проти гепатиту В стала комерційно доступною в 1982 р.

Хоча плазмова вакцина проти гепатиту В є безпечною та ефективною, порівняно висока вартість вакцини обмежила її широке використання. Теоретичні проблеми безпеки, пов'язані з плазмою крові від носіїв ВГВ, які можуть бути заражені ВІЛ та іншими патогенами, також перешкоджали використанню цієї вакцини. Крім того, заражене HBV джерело плазми людини обмежується, особливо коли поширеність HBsAg зменшилася після вакцинації проти HBV. Ці фактори призвели до пошуку альтернативних вакцин проти гепатиту В.

Успішне клонування гена HBV S у бактеріях показало можливість використання рекомбінантного HBsAg як вакцини проти гепатиту В [54]. Оскільки синтезований у бактеріях HBsAg не може належним чином зібратися у вигляді частинок, подібних до частинок, які є при природній інфекції у людини, експресія гена S була випробувана в еукаріотичних системах. HBsAg, синтезований у дріжджах Saccharomyces cerevisiae, здатний збиратись у частинки, подібні до 22-нм частинок, що утворюються у людини. Вакцина проти гепатиту В, що складається з HBsAg, очищеного від рекомбінантних дріжджових клітин, сильно індукувала анти-HBs-відповідь у мишей, мавп та шимпанзе, а щеплені шимпанзе були повністю захищені від внутрішньовенного введення гомологічних або гетерологічних людських ВГВ [43].

Широкі клінічні випробування на людях продемонстрували, що рекомбінантна дріжджова вакцина проти гепатиту В була безпечною та мала порівняну якісну та кількісну специфічність відповіді проти HBs та подібну захисну ефективність, як це робила вакцина проти плазми людини [52].

У 1986 р. Рекомбінантна вакцина проти НВ була затверджена Управлінням з контролю за продуктами та ліками США. З тих пір рекомбінантна вакцина проти гепатиту В поступово замінила плазмову вакцину проти гепатиту В. В даний час плазмова вакцина проти гепатиту В більше не використовується у всьому світі, і всі вакцини проти гепатиту В містять рекомбінантний HBsAg.

Нова вакцина проти гепатиту В, що носить назву HEPLISAV-B®, була ліцензована для дорослих віком від 18 років у 2018 році. Нова вакцина вимагає тільки дві дози на 1 місяць інтервалу, замість трьох доз протягом 6-місячного періоду [13]. HEPLISAV-B, який до затвердження був названий HBsAg-1018 ISS, містить рекомбінантний HBsAg у поєднанні з новим ад'ювантом агоніста Toll-подібного рецептора 9, олігодезоксинуклеотидом, який містить імуностимулюючі мотиви CpG, які можуть стимулювати В-клітини та плазмоцитоїдні дендрити шляхом зв'язування з Toll-подібним рецептором 9 [34].

У клінічних випробуваннях на дорослих у віці 40–70 років показник серопротекції проти HBs (анти-HBs ≥10 мМО / мл) у суб’єктів, вакцинованих ISS HBsAg-1018, становив 96,6% через 4 тижні після другої ін’єкції, що перевищувало 24,0 % у суб'єктів, вакцинованих звичайною вакциною проти гепатиту В, а через 4 тижні після третьої вакцинації швидкість серопротекції також мала суттєву різницю у суб'єктів, яким вводили HBsAg-1018 ISS та звичайну вакцину (100% проти 73,1%), демонструючи, що HBsAg -1018 ISS перевершує звичайну вакцину [51].

Подальше клінічне випробування на дорослих у віці 40–70 років продемонструвало, що швидкість серопротекції у суб’єктів, яким вводили дві дози ISS HBsAg-1018 з інтервалом у 4 тижні, була значно вищою, ніж у пацієнтів, які отримували три дози звичайної вакцини проти гепатиту В на 28 тижні після першої вакцинації (94,8% проти 72,8%), продемонструвавши, що HBsAg-1018 у двох дозах перевершує звичайну вакцину проти гепатиту В у три дози, що було підтверджено у здорових дорослих у віці 18–70 років [25].

Інші дослідження на пацієнтах із хронічною хворобою нирок або хронічною хворобою нирок та цукровим діабетом 2 типу показали, що три дози (20 мкг HBsAg) HBsAg-1018 на 0, 4 та 24 тижні відповідно мали швидкість серопротекції вище, ніж чотири подвійні дози. (40 мкг HBsAg) звичайної вакцини проти гепатиту В на 0, 4, 8 та 24 тижня відповідно [30].

Нещодавно ліцензована вакцина проти гепатиту В може викликати більш високу відповідь проти HBs швидше, що може забезпечити більш ранній захист. Графік прийому двох доз з інтервалом в 1 місяць може збільшити прихильність до повної вакцинації. Хоча нова вакцина не має додаткових побічних ефектів у клінічних випробуваннях, довгострокові дані про безпеку потребують подальших спостережень.

Відомо, що кліренс HBV у носія вимагає як вроджених, так і адаптивних гуморальних та клітинних імунних відповідей. Елімінація віріонів у гепатоцитах головним чином залежить від реакції Т-клітин. Таким чином, було докладено великих зусиль для розробки терапевтичної вакцини проти гепатиту

В з використанням різних генів ВГВ, включаючи P, C, S та / або ген pre-S, з різними методиками, заснованими на білку, комплексі білок-антитіло, пептиді або ДНК, для стимулювання гуморальної та / або клітинної імунної відповіді [21]. Однак, незважаючи на те, що терапевтичні вакцини викликали специфічні гуморальні та / або клітинні імунні відповіді у людини чи експериментальних тварин і показали багатообіцяючий терапевтичний ефект у деяких експериментальних тварин [57], клінічна ефективність терапевтичних вакцин обмежена. Отже, для розробки ефективних терапевтичних вакцин проти гепатиту В у людини потрібні подальші дослідження.

1.3 Введення вакцини проти гепатиту В

Спочатку кількість HBsAg у плазмі вакцини проти гепатиту В становила 20 або 40 мкг на дозу. Повний курс вакцинації вимагає трьох ін'єкцій через 0, 1 та 6 місяців відповідно, названих схемою прийому трьох доз. Через високу вартість та обмежувальне постачання вивчали імуногенність та захисну ефективність зменшеної дози вакцини проти гепатиту В, що також виявилося ефективним. Однак, оскільки HBsAg, синтезований у дріжджах, поділяє характер природного HBsAg у плазмі людини, за винятком глікозилювання, а надходження рекомбінантного HBsAg необмежене, зменшена доза вакцини проти гепатиту В більше не вважалася хорошою ідеєю [32].

В даний час доза вакцини проти гепатиту В містить 5 – 40 мкг рекомбінантного HBsAg, адсорбованого на гідроксиді алюмінію або ад’юванті фосфату алюмінію, що гнучко застосовується в різних субпопуляціях (Таблиця 1). Зазвичай доза для немовлят, дітей та підлітків становить половину дози, яка використовується для дорослих [49].

1.4 Імуногенність та безпека вакцини проти гепатиту В

Вакцину проти гепатиту В слід вводити внутрішньом’язево в передньобокову ділянку стегна (для немовлят та дітей віком до 2 років) або в дельтоподібний м’яз (для дітей старшого віку та дорослих). Не рекомендується

вводити вакцину в сідниці, оскільки цей шлях, як видається, викликає зниження рівня анти-HBs, ймовірно, пов'язане з жировим шаром, і може потенційно пошкодити сідничний нерв. Коли потрібно використовувати сідничний м’яз, слід уникати центральної області сідниць, але використовувати верхній зовнішній квадрант. У разі пост-експозиційної профілактики, HBIG (пасивна імунопрофілактика) та вакцина проти гепатиту В слід вводити в різних місцях [38].

Вакцина проти гепатиту В рекомендована всім немовлятам (універсальна вакцинація) та дітям, які не отримували вакцину проти гепатиту В протягом дитинства (наздоганяюча вакцинація). Для дорослих, як правило, рекомендується для тих, хто має підвищений ризик зараження, включаючи весь медичний, стоматологічний, лабораторний та інший медичний персонал лікарень, інтимних контактів або членів сім'ї носіїв ВГВ, пацієнтів із групи ризику (хронічна ниркова хвороби з гемодіалізом, таласемією, цукровим діабетом, коінфекцією вірусом гепатиту С або ВІЛ) та спеціальними групами, такими як гомосексуалісти чоловічої статі, комерційні сексуальні працівники, споживачі заборонених наркотиків та інші групи ризику. Теоретично кожен, хто сприйнятливий до ВГВ (негативний на HBsAg, анти-HBs та анти-HBc), може отримати вакцинацію, за винятком тих, хто має протипоказання [14].

Відома історія анафілаксії або серйозних побічних явищ після першого введення вакцини проти гепатиту В є протипоказанням для подальшої вакцинації. Також слід бути обережним при вакцинації особам з алергією на дріжджі в анамнезі. Крім того, вакцинацію проти гепатиту В слід відкласти у людини з гострим захворюванням або гарячкою. Вакцина проти гепатиту В не має додаткових побічних ефектів у вагітних жінок і може застосовуватися протягом будь-якого триместру вагітності.

З 189 країн, що включили вакцину проти гепатиту В у Розширену програму імунізації, 109 запровадили дозу вакцини проти гепатиту В для новонароджених протягом 24 годин після народження, із загальним глобальним

охопленням 42%, а інші країни не проводили політику пропонування дози при народженні новонародженим немовлятам [59].

Ці країни пропонують першу дозу вакцини проти гепатиту В разом з чотирма або п’ятьма іншими вакцинами, кон’югованими в один флакон, який включає вакцину проти дифтерії, правця, кашлюку, гемофільної палички типу В та гепатиту В (пентавалентний, DTaP5-HBV-Hib) та поліомієліт (шестивалентний, DTaP5-HBV-IPV-Hib). Графік вакцинації дещо різниться в різних регіонах, запланований у віці 2, 4 та 6 місяців (стандартний графік у Латинській Америці та Азії), у віці 2, 3 та 4 місяців (прискорений графік у Європі), або у віці 6, 10 та 14 тижнів (розширена програма графіка імунізації в Південній Африці та Індії) [53]. Як правило, швидкість сероконверсії проти HBs та стійкість імунітету у вакцинованих, подібна з показниками у вакцинованих лише вакциною проти гепатиту В [56]. Однак багатовалентну вакцину вводять лише у віці 6 тижнів або 2 місяці, залишаючи немовлят сприйнятливими до гепатиту В протягом дуже раннього періоду життя. Особливо це стосується немовлят, народжених від HBsAg-позитивних матерів, або в сім'ях, що мають інших членів з інфекцією HBV. Щоб подолати цю проблему, деякі країни застосовують комбінацію вакцини проти HBIG та гепатиту В у немовлят, народжених від HBsAg-позитивних матерів при народженні, та ще одну дозу вакцини проти гепатиту В у віці 1 місяця, якщо це необхідно, після чого три дози пентавалентної або шестивалентної вакцини, що містить вакцину проти гепатиту В у заплановані терміни [33].

1.5 Здійснення універсальної вакцинації проти гепатиту В

Існує дві стратегії вакцинації проти гепатиту В: універсальна вакцинація усіх немовлят та селективна вакцинація при одночасному застосуванні вакцини проти гепатиту В та HBIG у осіб, які піддаються впливу ВГВ, таких як немовлята, народжені від HBsAg-позитивних матерів. Коли спочатку ліцензували вакцину проти гепатиту В, більшість країн прийняли селективну вакцинацію через вартість та обмеження поставок вакцини. Однак програма

селективної вакцинації, націлена на новонароджених з експозицією ВГВ, не захищає від горизонтальної передачі. Універсальна вакцинація – це єдина практична стратегія досягнення глобального викорінення гепатиту В.

Оскільки технологія рекомбінантної ДНК може забезпечити необмежену кількість вакцин проти гепатиту В, стає можливим підготувати достатню кількість вакцин проти гепатиту В для світового використання. Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) рекомендувала в 1991 році всім країнам впровадити універсальну вакцинацію проти гепатиту В до 1997 року для запобігання та боротьби з ВГВ у глобальному масштабі [36].

Ця рекомендація заохочувала всі країни включати вакцину проти гепатиту В до своєї національної програми імунізації. Однак впровадження універсальної вакцинації у всьому світі не є простим завданням. До 2000 року лише 116 із 215 країн прийняли цю політику, що становить 31% світової когорти народжень. В ендемічних регіонах гепатиту В, де економіка, як правило, менш розвинена, брак коштів є головною причиною, тоді як у регіонах з низьким рівнем ендемії універсальна вакцинація немовлят виявляється менш важливою, що призводить до небажання приймати цю політику. Японія та Великобританія не застосовували універсальну політику вакцинації до 2016 та 2017 років відповідно [41].

Глобальний альянс з вакцин та імунізації (GAVI), був створений на початку 2000 р. Він був спочатку підтриманий Фондом Білла та Мелінди Гейтс і в даний час підтримується багатьма партнерами. Альянс зіграв важливу роль у сприянні впровадженню універсальної вакцинації проти гепатиту В у країнах з низьким та середнім рівнем доходу. Протягом 2011–2020 років GAVI підтримував вакцинацію проти гепатиту В у 73 країнах світу. Це призвело до різкого збільшення охоплення вакциною немовлят з 1% у 1990 році до 84% у 2015 році [58].

До кінця 2018 року 189 країн прийняли універсальну політику вакцинації проти гепатиту В. Загальне охоплення трьома дозами вакцини проти гепатиту В оцінюється у 84%, а найвище у Західній частині Тихого океану (підтримується

90–91% протягом 2014–2018 рр.). Крім того, 109 країн запровадили вакцинацію новонародженим немовлятам протягом перших 24 годин життя, а загальне охоплення становить 42%.

Немовлята, народжені від інфікованих ВГВ матерями, мають ризик зараження ВГВ. Основним ризиком перинатальної інфекції є високе вірусне навантаження у матері (ДНК ВГВ> 10^6 МО / мл) або позитивний вплив на антиген гепатиту В е (HBeAg) у матері; HBeAg добре корелює з високим вірусним навантаженням і є маркером високого вірусного навантаження, оскільки у 80–90% HBeAg-позитивних матерів ДНК ВГВ> 10^6 МО / мл [39]. Без заходів профілактики 70–90% немовлят, народжених від матерів-носіїв ВГВ із позитивним HBeAg, хронічно інфіковані. Тому профілактика передачі інфекції від матері до дитини є критично важливою для контролю хронічної інфекції HBV.

До появи вакцини проти гепатиту В HBIG був підготовлений та продемонстрований як ефективний у запобіганні перинатальній інфекції HBV. Подальші дослідження показали, що одночасне використання вакцини проти HBIG та гепатиту В у немовлят, народжених від HBeAg-позитивних матерів, має кращу захисну ефективність, ніж використання лише вакцин проти HBIG або гепатиту В. Таким чином, рекомендоване введення вакцини проти HBIG та / або гепатиту В немовлятам HBsAg-позитивних матерів для запобігання передачі ВГВ від матері до дитини. Зовсім недавні дослідження показали, що більш швидке (протягом 1 години після народження) використання HBIG та вакцини у немовлят з HBeAg-позитивними матерями ще більше знизило рівень передачі до 1,3–2,0% [31].

Оскільки HBIG недоступний у деяких регіонах, ефективність захисту лише вакцини проти гепатиту В також досліджувалась у немовлят, народжених від інфікованих HBV матерів. Раннє дослідження показало, що використання лише вакцини проти гепатиту В у плазмі крові, хронічна інфекція HBV у немовлят, народжених від матерів із позитивними HBsAg та HBeAg, становила 21%, що набагато нижче, ніж 73% немовлят, які не були щеплені взагалі. У

в'єтнамських новонароджених немовлят, лише при введенні рекомбінантної вакцини проти гепатиту В, жодне зі 102 немовлят, народжених від інфікованих HBV матерями з негативним HBeAg, не було інфікованим, тоді як 14,6% (12/82) немовлят, народжених від матерів із позитивними HBsAg та HBeAg, були заражені [45].

Інші дослідження також показали, що лише вакцина проти гепатиту В у немовлят матерів з негативними HBeAg виявилася настільки ж ефективною в порівнянні з комбінацією HBIG та вакцини проти гепатиту В для запобігання передачі інфекції від матері до дитини [40].

Ці результати вказують на те, що в регіонах з обмеженими ресурсами, де HBIG недоступний або пренатальний скринінг HBsAg не проводиться регулярно, універсальна вакцинація проти гепатиту В у новонароджених також може ефективно запобігти передачі від матері до дитини у немовлят, народжених від HBsAg-позитивних матерів, що наголошує на важливості вакцини при народженні немовлят у профілактиці перинатальної інфекції HBV. Однак у регіонах, де доступний HBIG, HBIG все одно слід вводити немовлятам з HBeAg-негативними матерями-носіями (див. табл. 1.1) до вакцини. HBIG є безпечним і має мінімальні побічні ефекти, і єдиною проблемою є вартість. Немовлята, народжені від HBeAg-негативних матерів-носіїв, піддаються впливу ВГВ під час процесу народження. Отже, використання як HBIG, так і вакцини повинно бути першим вибором імунопрофілактики у немовлят, народжених від HBeAg-негативних матерів-носіїв.

Хоча рекомбінантну вакцину проти гепатиту В можна виробляти необмежено, всесвітня універсальна вакцинація вимагає достатньої кваліфікації персоналу, повної національної програми імунізації, безпечного обладнання для ін'єкцій, належного транспортування, зберігання вакцини та інших. На підставі звітів ВООЗ, поширеність HBsAg в африканському регіоні та в деяких країнах, таких як Філіппіни, є відносно високою [60], що свідчить про те, що універсальна вакцинація проти гепатиту В не була прийнята належним чином.

В Індії охоплення щепленнями в різних районах надзвичайно різне, 45% дітей у віці 1–5 років не були щеплені проти гепатиту В протягом 2015–2016 років [33].

Таблиця 1.1.

Рекомбінантні вакцини проти гепатиту В,
що застосовуються на міжнародному або місцевому рівні

Назва вакцини	Компанія, країна	HBsAg (мкг) / об'єм (мл)
Engerix-B	GlaxoSmithKline, США	10 / 0.5
		20 / 1.0
		40 / 2.0
Recombivax HB	Merck & Co, США	5 / 0.5
		10 / 1.0
		40 / 1.0
Hepavax-Gene	Berna, Корея	10 / 0.5
		20 / 1.0
Euvax-B	Lucky Goldstar Chemical, Корея	10 / 0.5
		20 / 1.0
Revac-B	Bharat Biotech, Індія	10 / 0.5
		20 / 1.0
Heberbiovac-HB	Heber Biotec, Куба	10 / 0.5
		10 / 1.0
HBvaxPro	MSD Pharma, Сінгапур	5 / 0.5
		10 / 1.0
		40 / 1.0
Hanxin	Hiss Bio, Китай	10 / 0.5
		20 / 1.0
Tiantan	Tiantan, Китай	10 / 0.5
		20 / 1.0
Twinrix	GlaxoSmithKline, США	20 / 1.0
		20 / 1.0
Pediarix	GlaxoSmithKline, США	10 / 0.5
EasySix	Panacea Biotec, Індія	10 / 0.5
Pentavac SD-R	Human Biologicals, Індія	10 / 0.5
Quinvaxem	Crucell, Нідерланди	10 / 0.5
Hexaxim	Sanofi Pasteur, Франція	10 / 0.5

Традиційно вакцину проти гепатиту В слід транспортувати та зберігати при температурі 2–8 ° С, так званих холодних ланцюгів, що має фінансові витрати та негативно впливає на універсальну вакцинацію в країнах, де холодні

ланцюги не завжди доступні. Однак дослідження показали, що вакцина проти гепатиту В є термостабільною. Реактогенність та імуногенність вакцин проти рекомбінантної ДНК, що зберігаються при температурі 37 °C протягом 1 тижня, або 1 місяць, або при 45 °C протягом 1 тижня, були порівнянні з такою вакцини, що зберігалася при 4 °C. При зберіганні при 37 °C протягом 7 місяців або 12 місяців або при 45 °C протягом 3 місяців, ефективність вакцини все ще є достатньою [16]. У практичному застосуванні, при зберіганні при температурі навколишнього середовища протягом 1 місяця або 3 місяців, імуногенність вакцини така ж, як і вакцини, що зберігається в холодному ланцюгу [17]. Ці результати чітко показують, що вакцину проти гепатиту В можна зберігати при температурі навколишнього середовища, однак усі виробники вакцин рекомендують зберігати вакцини проти гепатиту В при температурі 2–8 °C. Таким чином, транспортування та зберігання вакцини проти гепатиту В при температурі навколишнього середовища може бути практично значущим для збільшення покриття дози при народженні в обмежених ресурсах або віддалених регіонах.

Ще одним фактором, який вплинув на універсальне впровадження вакцини проти гепатиту В, є непідтверджені побічні явища або скандали, пов’язані із вакциною. Це сталося у Франції в 1990-х роках і в материковому Китаї в 2014 році. Скандали можуть знищити довіру лікарів та громадськості до безпеки вакцини проти гепатиту В, що призведе до зниження вакцинації у деяких немовлят. Швидке реагування науковими доказами як органів охорони здоров’я, так і академічного суспільства на скандали та широкі комунікації зі ЗМІ та громадськістю необхідні для мінімізації негативного впливу та відновлення довіри громадськості до безпеки вакцини проти гепатиту В.

1.6 Вплив універсальної вакцинації проти гепатиту В на інфекцію HBV

У регіонах, де прийнято універсальну вакцинацію проти гепатиту В, частота гострого гепатиту В значно зменшилась. На Алясці в США, де гепатит

В був ендемічним, універсальна програма вакцинації проти гепатиту В, включаючи профілактику перинатальної інфекції гепатиту В, звичайну вакцинацію немовлят та вакцинацію старших дітей та дорослих, ліквідувала нові інфекції гепатиту В [24]. В Гонконзі, де універсальна вакцинація проти гепатиту В була розпочата з 1988 року, зареєстроване число випадків гострого гепатиту стійко знизилася з 250 випадків в 1988 році до 41 випадків в 2014 р. [37].

У популяціях, народжених після впровадження універсальної вакцинації проти гепатиту В, на підставі оцінки ВООЗ, загальна поширеність хронічної інфекції HBV у дітей віком до 5 років зменшилась з 4,7% в довакцинну еру до 1,3% у 2015 році і варіювала в різних регіонах, 0,2% в регіоні Америки, 0,4% в Європейському регіоні 0,7% у Південно-Східній Азії, 0,9% у Західному Тихоокеанському регіоні, 1,6% у Східному Середземномор'ї та 3,0% в Африканському регіоні [58].

Найбільшим досягненням, як видається, є суттєве зниження рівня поширеності HBsAg у Західному Тихоокеанському регіоні, де регулярно вводять вакцину проти гепатиту В при народженні, з 8,3% в епоху передвакцини до 0,93% протягом 2002–2015 років. Після універсальної вакцинації проти гепатиту В виявилося, що у дітей, народжених від HBsAg-негативних матерів, майже не спостерігається хронічної інфекції HBV [48].

Крім того, поширеність HBsAg серед молодих дорослих також суттєво знизилася в країнах або регіонах, де загальна програма вакцинації проти гепатиту В була прийнята з кінця 1980-х до початку 1990-х. Поширеність HBsAg серед молодих людей у віці 18–29 років на Тайвані у 2014 р. становила 0,7% (9/1246) [47], що набагато нижче, ніж понад 10% у довакцинальну еру. У Сінгапурі, поширеність HBsAg склала 1,1% серед молодих людей у віці 18-29 років у 2010 році, близько половини поширеності в 1998 і 2004 роках [15]. Ці дослідження продемонстрували, що універсальна вакцинація проти гепатиту В у грудному віці має довгостроковий вплив на поширеність HBsAg у молодих дорослих. Можна припустити, що хронічний рівень інфекції HBV в країнах, де

загальна вакцинація проти гепатиту В була найближчим часом також буде значно зменшено.

Оскільки етіологія HBV-інфекції в патогенезі гепатоцелюлярної карциноми (HCC) була добре встановлена, можна очікувати, що універсальна вакцинація проти гепатиту В може також зменшити частоту HCC у вакцинованих. Дослідження з Тайваню показало, що коефіцієнт захворюваності у дітей віком 6–14 років знизився з 4,5 на 100 000 до універсальної вакцинації до 1,9 у дітей 6–12 років після початку програми вакцинації [20].

Довгострокові подальші дослідження додали більше доказів запобігання виникненню HCC у вакцинованих, або навіть ліквідації HCC у корінних жителів Аляски після загальної вакцинації проти гепатиту В [44]. Крім того, впровадження універсальної вакцинації проти гепатиту В також зменшило частоту фульмінантного гепатиту В та хронічних захворювань печінки, пов’язаних із смертністю у вакцинованих [50].

В Україні для успішної боротьби з інфекційними хворобами запроваджено та діє Національна програма імунопрофілактики та захисту населення від інфекційних хвороб. Кожна країна розробляє національні схеми вакцинації відповідно до існуючої епідемічної ситуації, рекомендацій ВООЗ, можливостей системи охорони здоров’я, епідеміологічних характеристик інфекційного захворювання та появи нових вакцин на ринку. Україна належить до країн з мінімальною кількістю інфекційних захворювань, для профілактики яких проводяться планові щеплення [9].

Чинний Національний календар щеплень відрізняється від попередніх широким впровадженням та застосуванням інноваційних, ефективних та безпечних вакцин, його розробили провідні експерти та науковці Міністерства охорони здоров’я та Національної академії медичних наук України відповідно до ВООЗ і не має суттєвих відмінностей від графіків імунізації, передбачених календарями щеплень в інших країнах [10].

Основним завданням імунопрофілактики є створення популяційного імунітету населення держави на рівні 95%. Усі вакцини, придбані

Міністерством охорони здоров'я України та використовувані для вакцинації, зареєстровані в Україні та проходять лабораторний контроль якості перед централізованою доставкою в регіони. Сьогодні в Україні, контроль якості медичних імунобіологічних препаратів здійснює сертифікована ВООЗ лабораторія Державного експертного центру МОЗ України, яка має всі необхідні дозволи. Водночас переважна більшість вакцин, придбаних Міністерством охорони здоров'я, використовуються не лише в Україні.

В Україні вакцинацію проти ВГВ рекомендують з 1996 року людям групи ризику. З 2000 року всі новонароджені та певні групи ризику зараження були щеплені, особливо медичні працівники. Планова вакцинація дітей за епідемічними показаннями також передбачається з 2002 року [5].

Висновки до розділу 1

В останні роки вірусний гепатит став головною не лише медичною, а й соціально-економічною проблемою. Сучасні методи боротьби з вірусом гепатиту В (ВГВ) визначають комплексний підхід, спрямований на три частини епідемічного процесу - джерела вірусу, розрив передачі вірусу, захист сприйнятливої популяції. Імунопрофілактика залишається найефективнішим і тривалим засобом захисту від ВГВ. Універсальна масова вакцинація дітей першого року життя проти ВГВ захищає дітей раннього віку, запобігає небезпечним для життя наслідкам інфекції - хронічним захворюванням та можливості цирозу, гепатоцелюлярної карциноми в майбутньому. Впровадження гнучких схем щеплень, рекомендованих ВООЗ, до Національного календаря щеплень, двома або трьома дозами вакцини проти ВГВ у складі комбінованої гексавалентної вакцини збільшить рівень охоплення вакцинацією проти ВГВ в Україні щонайменше до рівня охоплення трьома дозами КДП, одночасно знизивши кількість ін’єкцій дітям та візитів у поліклініку, що сприятиме покращанню та своєчасності вакцинації.

Наявна в даний час вакцина проти гепатиту В є безпечною та високоефективною у профілактиці інфекції гепатиту В, але впровадження універсальної вакцинації та своєчасна доза при народженні є неоптимальними. Хоча вакцина проти гепатиту В видається термостабільною, і вакцина, що зберігається при температурі навколишнього середовища, має еквівалентну ефективність, як вакцина проти гепатиту В, що зберігається в холодному ланцюзі, потрібно більше доказів про ефективність вакцини проти гепатиту В, що транспортується та зберігається в навколишньому середовищі. Буде дуже цінним вдосконалити впровадження універсальної вакцинації проти гепатиту В та своєчасну дозу народження в обмежених ресурсами регіонах та віддалених районах. Розробка дводозової вакцини, що застосовується у немовлят зі порівнянною ефективністю, буде зручнішою для здійснення універсальної вакцинації проти гепатиту В.

Одним із першочергових завдань вдосконалення національної стратегії імунопрофілактики в Україні є дотримання курсу міжнародної стратегії боротьби з ВГВ. Введення в Національний календар щеплень гнучких схем щеплень, рекомендованих ВООЗ, двома-трьома дозами вакцини проти ВГВ як частини комбінованої шестивалентної вакцини збільшить охоплення щепленням від ВГВ в Україні щонайменше до трьох рівнів вакцинації. до клініки, що покращить своєчасність та своєчасність вакцинації.

РОЗДІЛ 2
ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

2.1 Характеристика антигену вірусу гепатиту В (HBsAg)

HBsAg – білок зовнішньої оболонки вірусу (глікопротеїновий поверхневий superficial антиген).

HBsAg – основний поверхневий антиген вірусу гепатиту В складається з 2 фрагментів: preS1 – іменогенний, preS2 – рецепторний (рис. 2.1). *Поліпептид preS1* має імуногенні властивості і використовується для приготування вакцини. *Поліпептид preS2* грає роль прикріплення вірусу до гепатоцитів, що спричиняє аутоімунні ускладнення та хронічність хвороби [3].

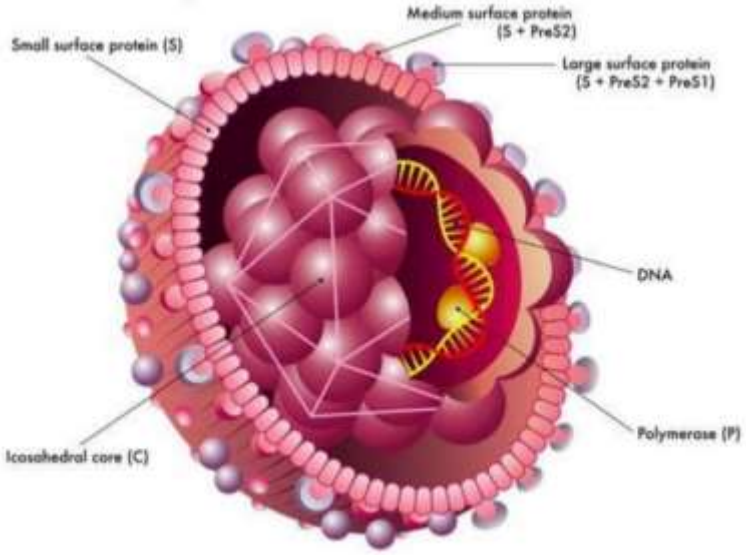


Рис. 2.1 Будова вірусу гепатиту В

Антиген виділяють із культури дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, у яких присутній ген, що кодує HBsAg, та очищають за допомогою фізико-хімічних методів. Поверхневий антиген спонтанно трансформується у сферичні частки діаметром 22 нм, в яких містяться неглікозильовані поліпептиди антигену і ліпідний матрикс, що складається, головним чином, з фосфоліпідів. Велика кількість досліджень показала, що ці частки мають властивості, характерні для

природного HBsAg. Антиген викликає утворення специфічних HBs-антитіл в крові, які у титрі 10 МО/л попереджують захворювання гепатитом В [3,4].

На рис. 2.2 зображено розташування HBs антигену у складі віріона гепатиту В.

Рис.2.2 Будова віріона вірусу гепатиту В (частка Дейна)

Складна будова віріона (форма – сферична, тип симетрії – кубічний):

1) Серцевина (нуклеокапсид=core) – ікосаедр;

- діаметр віріона складає 42 нм;
- 180 капсомерів;
- містить вірусні білки-антигени – HBcAg та HBeAg;
- двониткова ДНК (мінус-нитка і більш коротка неповна плюс нитка)
- протеїн Р;
- РНК-залежна ДНК-полімераза

2) Суперкапсид – ліпопротеїн, завтовшки 7 нм. 2 шари – фосфоліпіди та поверхневий антиген HBsAg (поверхневий протеїн), який складається з 3-ох білків:

- головного SHBs,
- середнього MHBs,

– довгого LHB

Через 1,5 місяці після інфікування вірусом HBsAg з'являється в крові. Визначається у вільному стані у сироватці крові, а також: у цитоплазмі гепатоцитів, і у складі віріонів. В сироватці, поряд з частками Дейна, HBsAg утворює сферичні діаметром 22 нм та ниткоподібні, тубулярні форми розміром 22 × 50-230 нм (рис. 2.3) [4].

А) Б)

Рис. 2.3 Схематичне зображення (А) та електронна мікроскопія сферичних і ниткоподібних форм HBsAg (Б)

2.2 Характеристика *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae – непатогенні одноклітинні мікроорганізми, факультативні анаероби, нерухомі, крупні, розміром 5-6 × 10-14 мкм, переважна більшість клітин дріжджів довжиною 9-11 мкм і шириною 6-8 мкм. Форма їх різноманітна. Форма та розміри клітин залежать від фізіологічного стану та умов їх культивування, мають округлу, еліпсоїдну чи яйцеподібну форму.

В залежності від умов культивування дріжджі у середньому містять 25% сухої речовини та 75% води. Склад сухих речовин наступний, %: вуглеводи – 25-50; азот – 4,8-12,0; білки (×6,25) – 30-75; неорганічні речовини – 5-10; ліпіди – 2-5 [2, 11].

S. cerevisiae розмножуються брунькуванням і добре ростуть на самих простих середовищах. Як джерело вуглецю у поживних середовищах дріжджі використовують глюкозу, а джерелом азоту для них можуть бути солі амонію [1] (рис. 2.4 та 2.5).

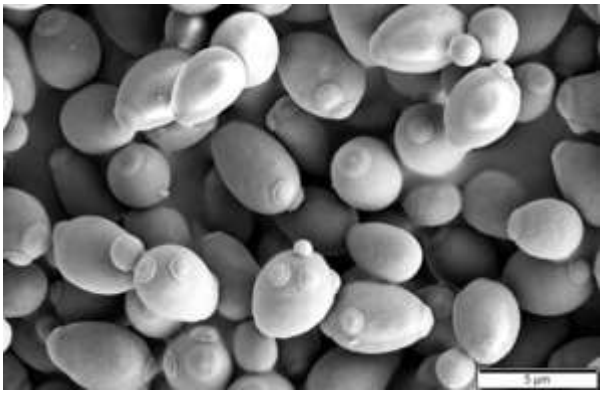


Рис. 2.4 Дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* (електронний мікроскоп)

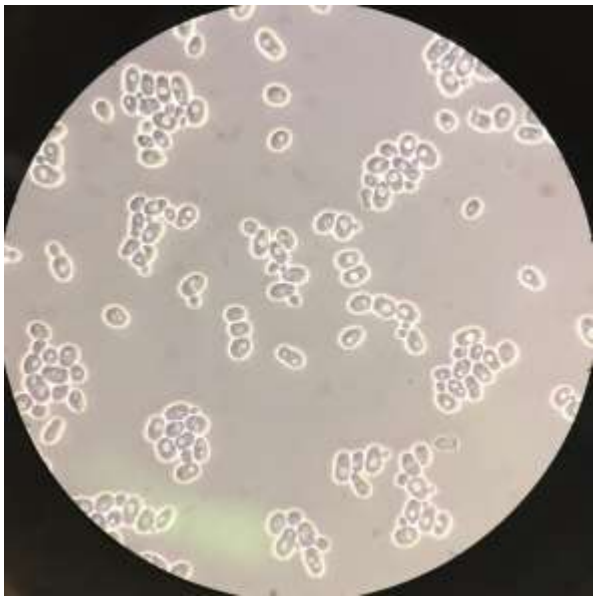


Рис. 2.5 Дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* (світловий мікроскоп ×100)

Дріжджі є факультативними анаеробами. В анаеробних умовах вони зброджуючи цукор, отримують необхідну енергію та проміжні продукти обміну. В аеробних умовах окислюють вуглеводи до вуглекислого газу та води [2].

S. cerevisiae – сапротрофи. При вирощуванні на середовищах з цукрами, викликають спиртове бродіння (перетворення цукру в етиловий спирт та вуглекислий газ).

Пригнічує життєдіяльність дріжджів додавання в поживне середовище цукру більше 15%, солі більше 1-1,5%, етилового спирту 2-5%. Дані дріжджі є облігатними аеробами, у зв'язку з цим потребують інтенсивної аерації середовища за глибинного культивування [5, 12].

Для отримання антигену HBsAg для виробництва вакцини від гепатиту В використовується рекомбінантний штам *Saccharomyces cerevisiae* Y1678.

Процес отримання HBsAg у клітинах *Saccharomyces cerevisiae* включає наступні етапи:

1. Генетична трансформація. З молекули ДНК вірусу гепатиту В виділяють ген, відповідальний за синтез поверхневого антигену вірусу гепатиту В.

2. Ген, відповідальний за синтез поверхневого антигену вірусу гепатиту В вбудовують в плазміду і вводять її в клітини дріжджів, в результаті дріжджі починають синтезувати частинки HBsAg.

3. Отримання рекомбінантного стабільного клону штамів-продуцентів.

4. Отримання біомаси клітин штамів-продуцентів шляхом культивування.

Для всіх штамів використовують двухстадійне культивування. Перша стадія служить для накопичення біомаси, друга – для індукції синтезу поверхневого антигену вірусу гепатиту В.

Штам *S. cerevisiae* Y1678 отриманий при схрещуванні штамів YF-135 і 5Д-П3016, клітини є диплоїдними, гетерозиготами по типу спарювання, гомозиготами по мутації Leu 2-3, 2-112, потреба в лейцині компенсується маркерним геном Leu2 на плазміді pCGA7, на якій трансформовані клітини штаму [6, 10].

Культурально-морфологічні особливості штаму: клітини кулясті, на твердих середовищах формують округлі колонії діаметром 1-5 мм, з рівним

краєм, білого кольору. При зростанні в рідкому середовищі утворюють осад на дні, поверхневий шар злегка мутний.

Оптимальна температура для накопичення біомаси 30-37°С. Оптимальні значення pH 6,5-7,5 [10].

У 1996 р. була визначена повна нуклеотидна послідовність всього набору хромосом *S. cerevisiae* За класифікацією Ейнсворта та Бісбі (2001) дріжджі роду *Saccharomyces cerevisiae* мають таке систематичне положення:

Домен	*Eukarya*
Царство	*Fungi*
Підцарство	*Dikarya*
Відділ	*Ascomycota*
Підвідділ	*Saccharomycotina*
Клас	*Hemiascomycetes*
Підклас	*Euascomycetes*
Порядок	*Saccharomycetales*
Родина	*Saccharomycetace*
Рід	*Saccharomyces*
Вид	*cerevisiae*
Штам	Y1678

2.3 Обґрунтування способу проведення біосинтезу

Для одержання продуктів життєдіяльності мікроорганізмів використовують методи глибинного чи поверхневого культивування.

Глибинний метод культивування полягає у вирощуванні мікроорганізмів в рідкому поживному середовищі. Він технічно більш досконалий, ніж поверхневий, так як легко піддається механізації і автоматизації. За допомогою даного способу можна отримати значно більше культуральної рідини та швидко накопичити біомасу.

Глибинне культивування відрізняється від поверхневого тим, що мікроорганізми-продуценти вирощуються не на поверхні поживного середовища, а у всій її товщі. Це дозволяє накопичити значно більше біомаси. Здійснюється глибинне культивування в спеціальних апаратах – ферментерах,

забезпечених мішалками і системою підведення стерильного повітря для забезпечення зростання аеробних мікроорганізмів.

Метод глибинного культивування володіє рядом переваг в порівнянні з поверхневим. Механічне перемішування і безперервна аерація сприяють доступу поживних речовин і кисню до всіх клітин, забезпечуючи сприятливі умови для росту і накопичення продуктів метаболізму. Глибинне культивування вимагає певних умов, відповідних фізіологічним потребам, і дотримання стерильності на всіх етапах. Однією з істотних умов успішного вирощування є правильна підготовка посівного матеріалу. Надзвичайно важливо підтримання режиму pH середовища, так як різкі коливання кислотності, що свідчать про зміну умов культивування або стану культури в небажану сторону, можуть призвести до її швидкої загибелі [8].

Асептичне глибинне культивування має ряд переваг перед поверхневим і передбачає:

- скорочення виробничих площ;
- збільшити обсяги виробництва;
- повністю автоматизувати і механізувати процес;
- виключення тяжкої ручної праці;
- перехід на безперервний спосіб культивування;
- раціональне використання поживних речовин, що дає можливість значно скоротити відходи виробництва і одержати продукт вищої якості;
- покращити санітарно-гігієнічні умови праці [8].

Синтез антигену HBsAg у клітинах *Saccharomyces cerevisiae* Y1678 відбувається на другій стадії культивування, тому обирається періодичний спосіб культивування.

Отже, культивування *S. cerevisiae* Y1678 здійснюється глибинним способом в асептичних умовах. Обраний глибинний спосіб культивування дозволяє значно зменшити кількість відходів виробництва і отримати продукт з

меншим вмістом домішок та вищою питомою активністю. Асептичні умови повністю виключають ризик контамінації.

Оскільки культивування *S. cerevisiae* Y1678 буде відбуватися глибинним способом в аеробних умовах, то ферментер в якому будуть проводити культивування повинен бути обладнаний: пристроями для аерації, підтримки температури та перемішування культуральної рідини; мати датчики: температури, тиску подачі кисню, pH, концентрації кисню.

У зв'язку з тим, що клітини рекомбінантних штамів мікроорганізмів мають крихку клітинну стінку, потрібно зменшити механічний вплив на клітини під час культивування. Тому обираємо ферментер, в якому замість мішалки використовується одночасний рух рідинної і газової фаз за допомогою дифузора.

На підприємствах для культивування дріжджів, у тому числі *Saccharomyces cerevisiae* застосовують ферментери системи Лефрансуа-Марійє (рис.2.6) [8].

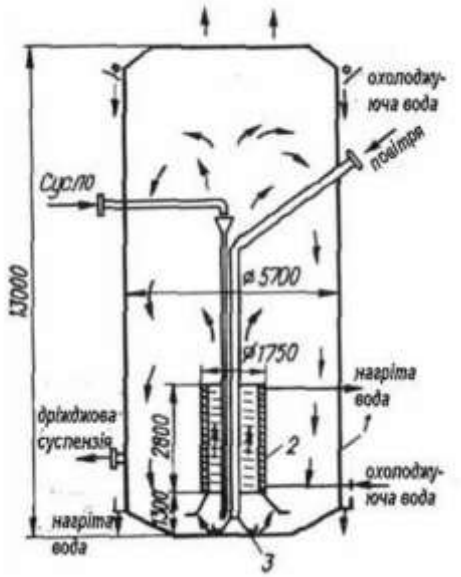


Рис. 2.6 Ферментер для вирощування дріжджів системи Лефрансуа-Марійє: 1 – корпус; 2 – дифузор; 3 – кювета

Апарати об'ємом від 100 до 1300 м^3 представляють собою циліндричну місткість, всередині якої концентрично розташований дифузор-теплообмінник.

Повітря потрапляє у ферментер через повітропровід, розташований в центрі апарата. В нижній частині біореактора повітропровід спирається конічну основу, яка утворює з дном кільцевий зазор (кювету) для виходу повітря. Утворена газорідинна дисперсія по дифузору піднімається майже до верху ферментера. Діаметр дифузора відповідає потоку диспергованої культуральної рідини. Частина повітря відділяється від потоку диспергованої рідини і через відкритий люк виходить з ферментера, а інша частина повітря з диспергованою рідиною сходить до низу по кільцевому зазору між стінкою апарата і дифузором.

За допомогою руху стовпа рідини при її циркуляції відбувається гасіння піни. Піна зріджується і рідина повертається в кювету, рідина знову диспергується і піднімається по дифузору. Швидкість циркуляції: 2-3хв$^{-1}$; швидкість розчинення кисню не більше 2-3кг/м^3×год [8].

Для отримання достатньої кількості цільового продукту необхідно накопичити велику кількість біомаси дріжджів. Тому обираємо ферментер об’ємом 100 м^3 для оптимального співвідношення виходу цільового продукту до вартості процесу біосинтезу. Коефіцієнт заповнення ферментера 70%, витрати повітря 2250-6650 м^3 /год.

2.4 Обґрунтування способу виділення та очищення

Для виділення цільового продукту антигену HBsAg з клітин дріжджів потрібно використати метод відділення біомаси від культуральної рідини, при якому на клітини не будуть впливати хімічні сполуки, високі температури та інші чинники, що можуть спричинити руйнування нуклеїнових кислот та антигену.

Для відділення біомаси дріжджів від культуральної рідини обираємо спосіб *центрифугування*. Процес центрифугування проводять при температурі 10-15°С. По завершенню відділення біомасу обробляють буферним розчином для повного видалення залишку культуральної рідини.

Наступним проводять дезінтеграцію клітин шляхом гомогенізації високого тиску для руйнування клітин. При силовому впливі високого тиску утворюється екстракт, що містить різноманітні білки та HBsAg.

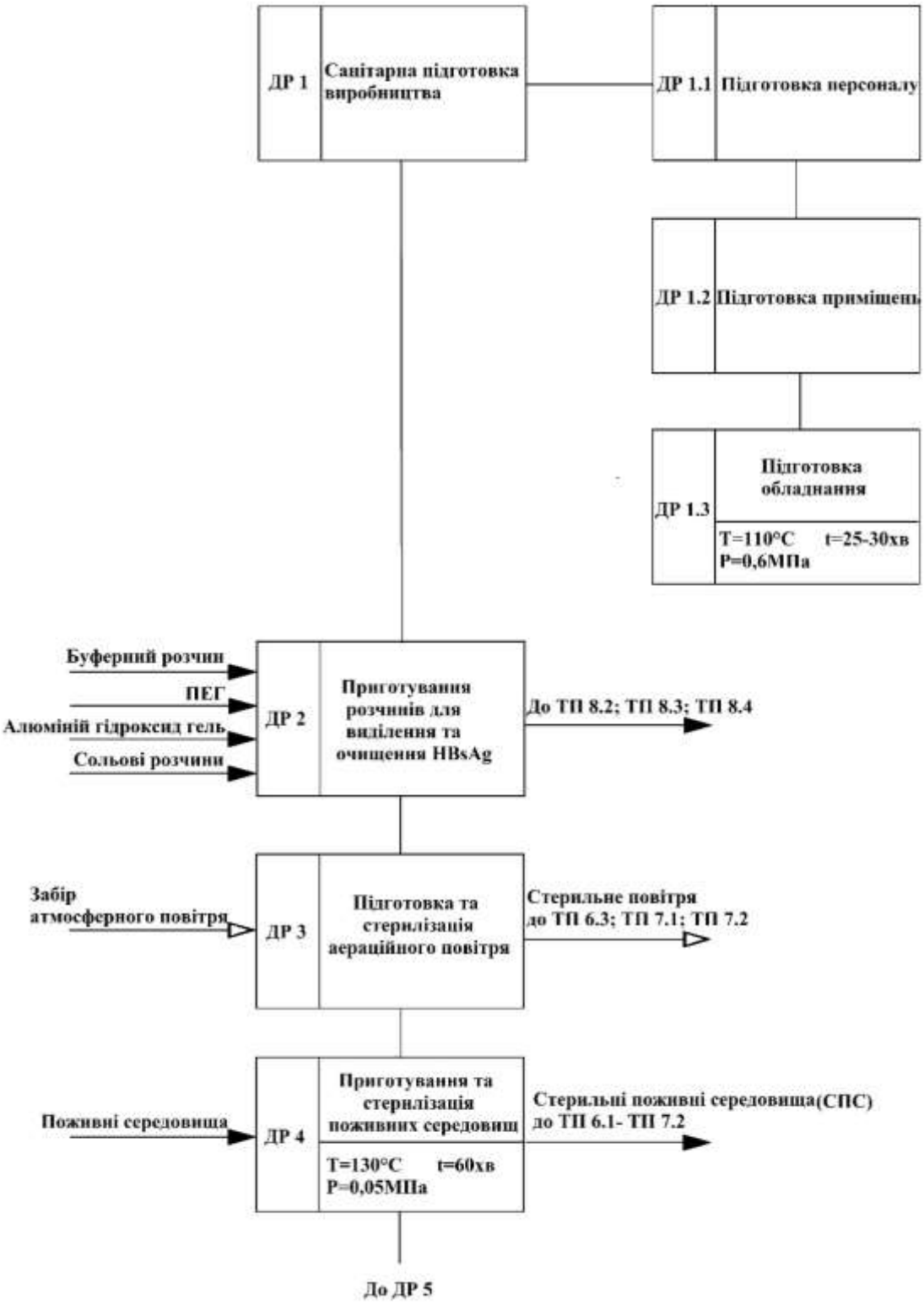
Отриманий екстракт з HBsAg обробляють з метою осадження баластних білків зруйнованих клітин таким чином, щоб у рідині з осадом містився неочищений розчин HBsAg. Для осадження баласту використовується ПЕГ (поліетиленгліколь), що додають при температурі 2-8°С. Потім за цієї ж температури отриману суміш витримують 16-24 години для утворення осаду [9].

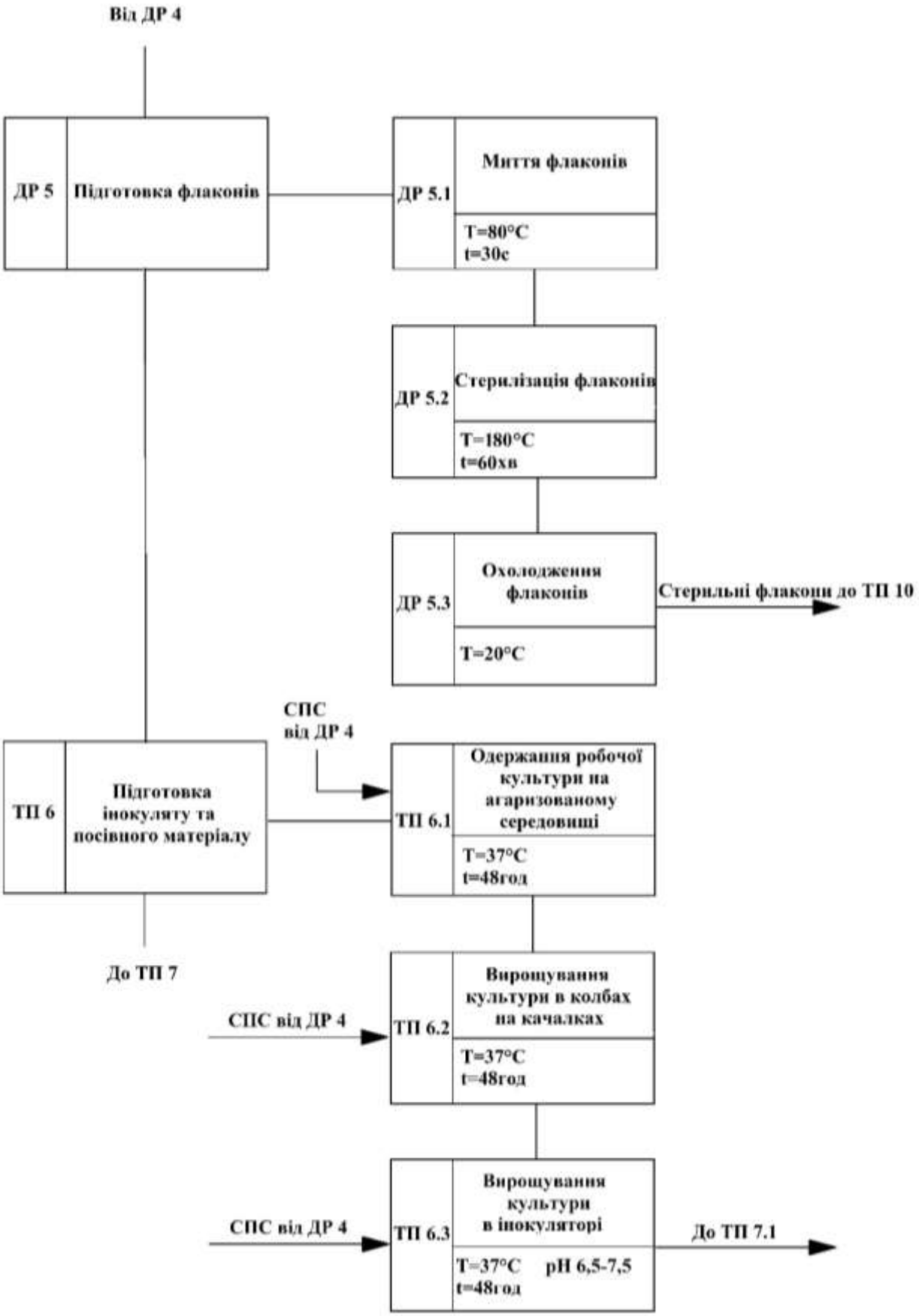
Далі осад відокремлюється, надосадову рідину, що містить HBsAg обробляють адсорбентом, в якому сорбується антиген. В якості адсорбента використовується *алюмінію гідроксид гель 0,50 мг* Al_3+. Адсорбент відділяють центрифугуванням. Десорбцію антигену проводять промиванням сольовими розчинами.

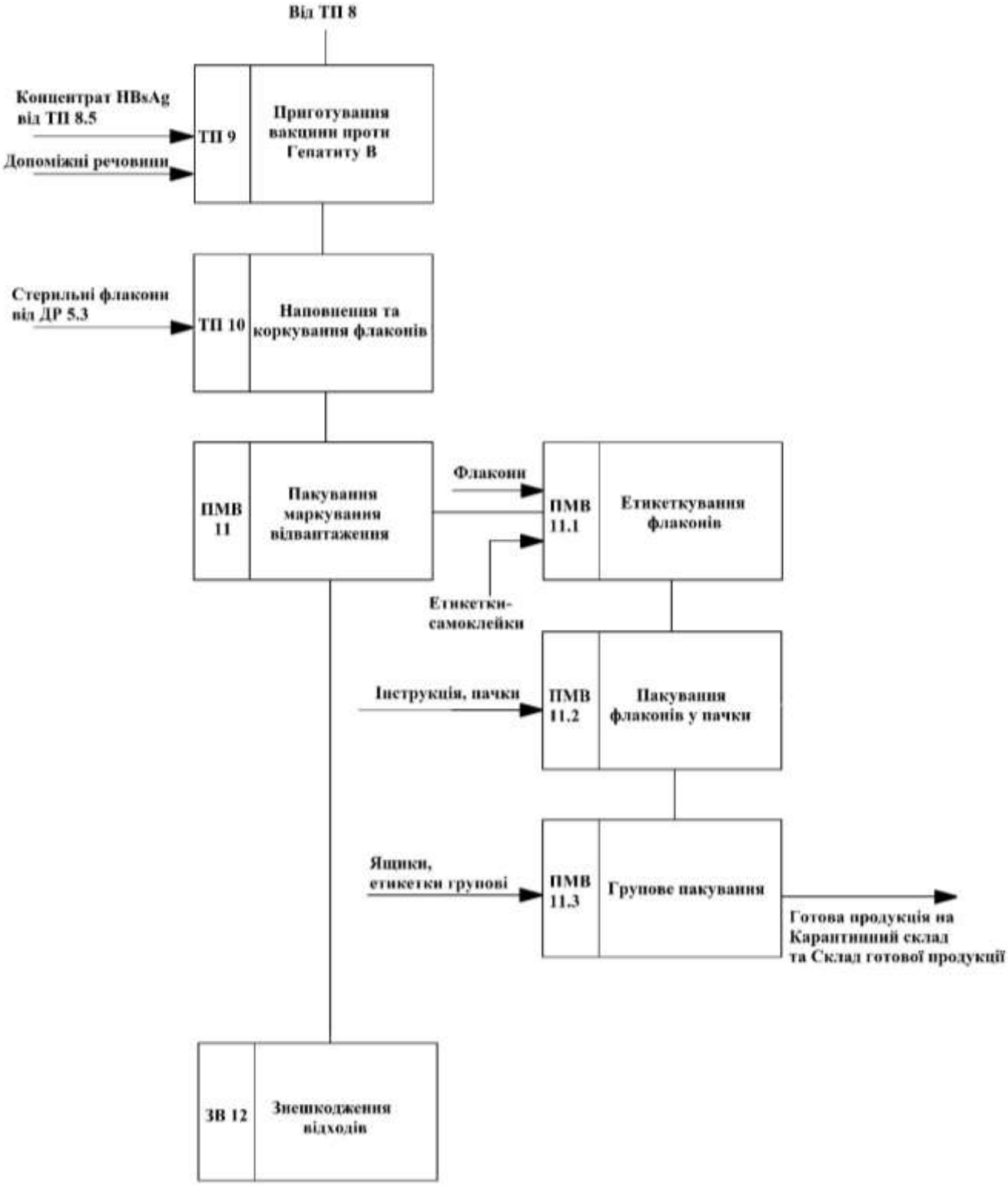
Отриманий розчин з антигеном HBsAg піддають іонообмінній хроматографії, збирають фракції з HBsAg, які потім об’єднують. Солі видаляють ультрафільтрацією.

Розчин антигену HBsAg піддають молекулярно-розподільчій хроматографії, після чого обробляють формаліном при температурі 37°С в продовж 72-96 год. Проводять стирилізуючу фільтрацію через мембрани з розміром пор 0,22 мкм [9].

2.5 Технологічна блок-схема виробництва вакцини проти гепатиту В




Від ДР 4
ДР 5
Підготовка флаконів
ДР 5.1
Миття флаконів
T=80°C
t=30с
ДР 5.2
Стерилізація флаконів
T=180°C
t=60хв
ДР 5.3
Охолодження флаконів
T=20°C
Стерильні флакони до ТП 10
СПС від ДР 4
ТП 6
Підготовка інокуляту та посівного матеріалу
ТП 6.1
Одержання робочої культури на агаризованому середовищі
T=37°C
t=48год
До ТП 7
СПС від ДР 4
ТП 6.2
Вирощування культури в колбах на качалках
T=37°C
t=48год
СПС від ДР 4
ТП 6.3
Вирощування культури в інокуляторі
T=37°C pH 6,5-7,5
t=48год
До ТП 7.1


Від ТП 8
Концентрат HBsAg від ТП 8.5
Допоміжні речовини
ТП 9
Приготування вакцини проти Гепатиту В
Стерильні флакони від ДР 5.3
ТП 10
Наповнення та коркування флаконів
ПМВ 11
Пакування маркування відвантаження
Флакони
ПМВ 11.1
Етикеткування флаконів
Етикетки-самоклейки
Інструкція, пачки
ПМВ 11.2
Пакування флаконів у пачки
Ящики, етикетки групові
ПМВ 11.3
Групове пакування
Готова продукція на Карантинний склад та Склад готової продукції
ЗВ 12
Знешкодження відходів

2.6 Опис технологічної схеми

ДР 1. Санітарна підготовка виробництва

ДР 1.1. Підготовка персоналу

Підготовка персоналу включає: медичне обстеження, допуск до роботи, дотримання гігієнічних вимог персоналом, використання захисного одягу відповідно класу чистоти, навчання і контроль знань.

ДР 1.2. Підготовка приміщень

Проводиться прибирання: підлоги, зовнішньої поверхні обладнання, трубопроводів, апаратури і комунікації, стін, стелі, килимки при вході обробляють дезінфікуючими розчинами. Один раз на тиждень проводиться генеральне прибирання.

ДР 1.3. Підготовка обладнання

Обладнання спочатку миють водою 2 хв з передачею води у збірник нейтралізації. Для миття і дезінфекції обладнання використовується зрошування дезінфекційного розчину нагрітого до температури 50-60 °С з експозицією 15 хв. Потім проводять ополіскування очищеною або пом’якшеною водою з передачею води у збірник нейтралізації. Після огляду та ремонту його знову миють водою.

Після миття біореактора повітропровід продувають повітрям. Після огляду та ремонту його знову миють водою.

Після миття ферментаційне обладнання (інокулятор і ферментер) піддають стерилізації (Т=110°С, Р=0,6МПа протягом 25-30хв).

ДР 2. Приготування розчинів для виділення та очищення HBsAg

За допомогою об’ємно-вагового зважують: ПЕГ, буферний розчин, алюміній гідроксид гель, сольові розчини та наливають у ємності. Далі стерилізують та відправляють на стадію *ТП 8.2 – ТП 8.4* (виділення і очищення цільового продукту).

ДР 3. Підготовка та стерилізація аераційного повітря

Для стерилізації атмосферне повітря потрапляючи через повітрозабірник, який розташовується у зоні чистого повітря, віддаленої від зон технологічних шкідливих викидів або викидів систем витяжної вентиляції проходить наступні стадії:

- Очищення повітря від пилу і механічних частинок;
- Транспортування і стабілізація термодинамічних показників повітря;
- Очищення повітря в головному фільтрі;
- Стерилізація повітря в індивідуальному фільтрі.

Після проходження усіх стадій повітря стерилізується. Ефективність очищення складає 99,99%.

ДР 4. Приготування та стерилізація поживних середовищ

Для високої концентрації антигену HBsAg (150 мг/л) у біомасі *S. cerevisiae* Y1678 при культивуванні на агарі, в колбах, інокуляторі та біосинтезу у ферментері обирається поживне середовище наведене у табл. 2.1. Джерелом вуглецю для біомаси буде Д-глюкоза, а джерелом азоту – *β*-аланін.

Таблиця 2.1

Склад поживного середовища для культивування *S. cerevisiae* Y1678

№	Компонент	Концентрація, г/л
1	Фосфор	1
2	Фосфор (для другої стадії виробничого біосинтезу)	0,03
3	$MgSO_4$	0,5
4	KCl	1
5	NaCl	0,1
6	$CaCl_2$	0,1
7	L-аспарагін	2
8	Д-глюкоза	20
9	*β*-аланін	5×10^{-4}

10	Біотин, тіамин, рибофлавін, пиридоксин, нікотиновая кислота, пантотенат кальцію, параамінобензойна кислота	2×10^{-4}
11	Дистильована вода	

Компоненти поживного середовища зважуються на технічних вагах, діляться на композиції та стерилізуються (Т=112-130°С, Р=0,05МПа, протягом 60хв). Стерильні поживні середовища відправляються на стадії накопичення біомаси та виробничого культивування (*до ТП 6.1 – ТП 7.2*).

ДР 5. Підготовка флаконів

ДР 5.1 Миття флаконів

В автоматичній мийно-сушильній машині проводиться перевертання і миття водою очищеною зовнішньої та внутрішньої поверхонь. Температура води 80 ℃.

ДР 5.2. Стерилізація флаконів

У флакони завантажують у аеростерил та стерилізують сухим жаром протягом 60 хв за температури 180℃, потім флакони прямують на охолодження.

ТП 5.3 Охолодження

Після стерилізації відбувається охолодження флаконів до температури 20°С. Далі флакони надходять на наповнення їх готовою вакциною (*До ТП 10*).

ТП 6. Підготовка інокуляту та посівного матеріалу

ТП 6.1. Одержання робочої культури на агаризованому середовищі

Колекційну культуру штрихом висівають у пробірки на LB агар з поживним середовищем (*від ДР4*) та вирощують у термостаті за температури 37˚С протягом 48 год.

ТП 6.2. Вирощування культури в колбах на качалках

Для вирощування рідкого посівного матеріалу у качалочні колби в асептичних умовах вносять поживне середовище (*від ДР 4*) і перемішують.

У пробірку з робочою культурою *S. cerevisiae* Y1678, вирощену на сусло-агарі, вносять 5 мл фізіологічного розчину, суспендують клітини (змивають

культуру), піпеткою відбирають одержану бактеріальну суспензію і вносять у колби з розлитим поживним середовищем. Вирощування посівного матеріалу у колбах на качалках проводять за температури 37 °С упродовж 48 годин. Після вирощування дріжджів у колбах культуральну рідину з колб асептично переливають у збірник.

ТП 6.3. Вирощування культури в інокуляторі

У простерилізований та охолоджений до 37 °С інокулятор об'ємом 10 м^3 шляхом витіснення стерильним повітрям із збірників подають стерильні та охолоджені до 37 °С поживні середовища (*від ДР 4*). Посівний матеріал із збірників (*від ТП 6.2*) асептично перекачують до інокулятора стерильним стисненим повітрям. Коефіцієнт заповнення 70%.

Вмикають подачу стерильного повітря (*від ДР 3*), вмикають мішалку та у парову сорочку подають пар і холодну воду для підтримки температури. Температура культивування підтримується на рівні 37 °С, pH – 6,5-7,5. Час культивування 48 годин. Після завершення культивування в інокуляторі біомасу перекачують у виробничий ферментер (*до ТП 7.1*).

ТП 7. Виробничий біосинтез

ТП 7.1. Культивування для накопичення біомаси

У простерилізований та охолоджений до 37 °С ферментер об'ємом 100 м^3 шляхом витіснення стерильним повітрям асептично подають стерильні та охолоджені до 37 °С компоненти поживного середовища (*від ДР 4*). З інокулятора (*від ТП 6.3*) асептично перекачують культуральну рідину. Коефіцієнт заповнення ферментера становить 70%.

Вмикають подачу стерильного повітря (*від ДР 3*) через повітропроовід, у дифузор подають гарячу та холодну воду для підтримки температури. Температура культивування підтримується на рівні 37 °С завдяки зміні відношення швидкості подачі холодної води та гарячрї води, pH 6,5-7,5. Накопичення біомаси *S. cerevisiae* Y1678 відбувається за високої концентрації фосфору у поживному середовищі (1 г/л).

За 20 годин культивування концентрація біомаси становить 1×10^6 КУО/мл. Загальний час першої стадії біосинтезу становить 72 годин. Через 70-72 годин від початку культивування концентрація клітин *S. cerevisiae* Y1678 досягає максимального значення ($2,4\times10^8$ КУО/мл).

Кожних 2 години здійснюються відбір проб культуральної рідини для проведення контролю концентрації біомаси та відсутності сторонньої мікробіоти.

ТП 7.2. Культивування для синтезу HBsAg

Для того у накопиченій біомасі дріжджів *S. cerevisiae* Y1678 збільшити синтез HBsAg – знижують концентрацію фосфору до 0,03 г/л. Культивування із зниженим вмістом фосфору продовжують ще протягом 26-28 годин, підтримуючи температуру 37˚С та значення pH 6,5-7,5.

Кожних 2 години здійснюються відбір проб культуральної рідини для проведення контролю концентрації біомаси, цільового продукту та відсутності сторонньої мікробіоти.

Через 28 годин (загальний час біосинтезу 100 годин) концентрація HBsAg у культуральній рідині становить 150 мг/л, процес біосинтезу завершено.

ТП 8. Виділення і очищення цільового продукту

ТП 8.1. Центрифугування

Після завершення процесу біосинтезу для відділення біомаси від культуральної рідини використовують центрифугування. Його проводять при температурі 10-15°С протягом 30 хв, потужність 4000 g. По завершенню відділення, біомасу обробляють буферним розчином для повного видалення залишку культуральної рідини.

ТП 8.2. Дезінтеграція клітин

Дезінтеграцію клітин шляхом гомогенізації високого тиску для руйнування клітин. Для цього використовується проточний дезінтегратор Dyno-Mill типу KDL. При силовому впливі високого тиску утворюється екстракт, що містить різноманітні білки та HBsAg.

ТП 8.3. Осадження баластних білків

Отриманий екстракт з HBsAg обробляють з метою осадження баластних білків зруйнованих клітин таким чином, щоб у рідині з осадом містився неочищений розчин HBsAg. Для осадження баласту використовується ПЕГ, що додають при температурі 2-8°С. Потім за цієї ж температури отриману суміш витримують 16-24 години для утворення осаду.

ТП 8.4 Адсорбування HBsAg

Надосадову рідину, що містить HBsAg обробляють адсорбентом, в якому сорбується антиген. В якості адсорбента використовується алюмінію гідроксид гель 0,50 мг. Адсорбент відділяють центрифугуванням. Десорбцію антигену проводять промиванням сольовими розчинами. Отриманий розчин з антигеном HBsAg піддають іонообмінній хроматографії, збирають фракції з HBsAg, які потім об’єднують. Солі видаляють ультрафільтрацією.

ТП 8.5. Отримання концентрату HBsAg

Розчин антигену HBsAg піддають молекулярно-розподільчій хроматографії, після чого обробляють формаліном при температурі 37°С в продовж 72-96 год. Проводять стирилізуючу фільтрацію через мембрани з розміром пор 0,22 мкм.

ТП 9. Приготування вакцини проти гепатиту В

У простерилізований реактор-змішувач асептично перекачують концентрат HBsAg адсорбований на алюмінію гідроксиді та асептично додають допоміжні речовини: тіомерсал, калію дигідрофосфат, натрію гідрофосфат додекагідрат, натрію хлорид, вода для ін’єкцій. Усі компоненти перемішують. Готову вакцину відправляють у зону чистоти А для наповнення у флакони (*до ТП 10*). Загальний склад вакцини проти гепатиту В наведений в табл. 2.2.

Таблиця 2.2

Склад вакцини проти гепатиту В.

Дози речовин для дорослих і дітей, як є в складі вакцини

Сировина	**Склад на 0,5 мл (доза для дітей)**	**Склад на 1 мл (доза для дорослих)**
Очищений HBsAg	0,010 мг	0,020 мг
Алюмінію гідроксиду гель	0,25 мг	0,5 мг
Тіомерсал	0,05 мг	0,1 мг
Калію дигідрофосфат	0,265 мг	0,53 мг
Натрію гідрофосфат додекагідрат	1,10 мг	2,20 мг
Натрію хлорид	4,25 мг	8,50 мг
Вода для ін’єкцій	до 0,5 мл	до 1,0 мл

ТП 10. Наповнення та коркування флаконів

Помиті та простерилізовані флакони (*від ДР 5.3*) завантажуються на конвеєр автоматичної лінії для наповнення та закорковування флаконів, що знаходиться у зоні чистоти А. Флакони рухаються по конвеєру та за допомогою сортувального пристрою розділяються, далі флакони зупиняються та фіксуються під дозувальним пристроєм. Дозувальні трубки опускаються у флакони та наповнюють із збірника в кожний флакон по 1,0 мл готової вакцини проти гепатиту В. Одразу після наповнення флакони рухаються до закорковування.

Флакони у автоматичному режимі закриваються стерильним гумовими пробками з металевими кришечками. Відбраковані флакони відправляють до збірника нейтралізації (*до ЗВ 12*).

Далі флакони вивозять зі стерильного класу чистоти, та відправляють на стадію маркування, пакування й відвантаження.

ПМВ 11. Пакування маркування відвантаження

ПМВ 11.1. Етикеткування флаконів

Закорковані флакони (*від ТП 10*) завантажують на конвеєр автоматичної роторної машини етикеток-самоклейок де відбувається маркування флакона із зазначенням на етикетці назви лікарського засобу, діючої речовини та її концентрацію у 1 мл, номер серії та термін придатності. Потім флакони відправляють на пакування у пачки (вторинну упаковку).

ПМВ 11.2. Пакування флаконів у пачки

Пакування флаконів у пачки та вкладання інструкції здійснюється на картонажній машині. Спочатку картонажна машина складає картонну коробку та складає інструкцію. Потім флакони, які рухаються по конвеєру закладаються у картонну коробку разом з інструкцією, витискається термін придатності і номер серії, після чого коробки закриваються. Далі закриті коробки з лікарським засобом відправляються на фасування у групову тару.

ПМВ 11.3. Групове пакування

Запаковану у пачки з інструкціями вакцину розфасовують у групову тару і відправляють на Карантинний склад та Склад готової продукції. Готову вакцину зберігають при температурі від 2 до 8 °С.

ЗВ 12. Знешкодження відходів

Відпрацьовані миючі засоби, вода та конденсат зливаються у каналізацію, потім очищується та зливається у водоймище.

Відпрацьоване повітря очищується у фільтрі і викидається в атмосферу.

Не використані та відбраковані пакувальні матеріали відправляють на виробництва по переробці картонних та паперових виробів.

Відбраковані, не наповнені та пошкоджені флакони з вакциною відправляють у збірник нейтралізації.

Висновки до розділу 2

HBsAg – білок зовнішньої оболонки вірусу (глікопротеїновий поверхневий superficial антиген).

HBsAg – основний поверхневий антиген вірусу гепатиту В складається з 2 фрагментів: preS1 - імуногенний, preS2 – рецепторний (рис. 2.1). *Поліпептид preS1* має імуногенні властивості і використовується для приготування вакцини. *Поліпептид preS2* грає роль прикріплення вірусу до гепатоцитів, що спричиняє аутоімунні ускладнення та хронічність хвороби

Синтез антигену HBsAg у клітинах *Saccharomyces cerevisiae* Y1678 відбувається на другій стадії культивування, тому обирається періодичний спосіб культивування.

Отже, культивування *S. cerevisiae* Y1678 здійснюється глибинним способом в асептичних умовах. Обраний глибинний спосіб культивування дозволяє значно зменшити кількість відходів виробництва і отримати продукт з меншим вмістом домішок та вищою питомою активністю. Асептичні умови повністю виключають ризик контамінації.

Оскільки культивування *S. cerevisiae* Y1678 буде відбуватися глибинним способом в аеробних умовах, то ферментер в якому будуть проводити культивування повинен бути обладнаний: пристроями для аерації, підтримки температури та перемішування культуральнї рідини; мати датчики: температури, тиску подачі кисню, pH, концентрації кисню.

РОЗДІЛ 3
СЕРТИФІКАЦІЯ ВАКЦИНИ ГЕПАТИТУ В

3.1 Основна документація для сертифікації вакцини проти гепатиту В

Відповідна документація є ключовим фактором у забезпеченні виробництва високоякісної вакцини проти гепатиту відповідно до вимог GMP. Основна мета системи розробленої чи затвердженої документації - створення умов для впровадження, відстеження та ведення обліку якості з усіх аспектів виробництва та контролю якості.

Щоб досягнути цієї мети потрібно кілька типів документації [62]:

1. Стандартні операційні процедури, специфікації та правила виробництва

Описові документи надають інструкції про те, як виконати процедуру або проаналізувати або надати опис технічних специфікацій. Документи включають наступне: Стандартна процедура (LDS); протоколи (тести на валідацію, тести на стабільність, тести на безпеку); та виробничі норми (виробничі інструкції). Кожен з цих документів містить рекомендації щодо виконання конкретних процедур. Технічні характеристики описують необхідні характеристики або склад препарату, матеріал або тест. Документація такого роду встановлює конкретні деталі, що характеризують якість вхідних матеріалів, якість виробничого середовища, якість процесу виробництва і контролю і якість готового продукту.

2. Стандартні форми бухгалтерського обліку

Інші види документів включають стандартну форму, яка використовується для запису даних під час виконання робочих завдань, проведення тестів або заходів. Це можуть бути стандартні форми (форми для запису даних або форм бухгалтерської звітності), звіти, протоколи супроводу

партії препарату і журнали роботи технічного обладнання. Ці документи містять фактичні дані, які підтверджують, що сировина, виробниче середовище, технологічний процес і готова продукція послідовно відповідають встановленим вимогам якості.

3. Ідентифікаційні номери

Крім того, існують системи ідентифікації або системи класифікації кодів, призначені для запису та відстеження інформації та документів за реєстраційним номером. До них відносяться система нумерації SPD, ідентифікаційні номери на обладнанні, стандартна система нумерації форм, система кодування вхідних матеріалів та номери партії / серії. Всі ці системи нумерації повинні бути спроектовані таким чином, щоб можна було контролювати відповідні процедури, процеси та матеріали журналу даних.

4. Маркування

Системи маркування призначені для визначення стану обладнання або виробничих потужностей, обмежених виробничих майданчиків і попереджувальних знаків. До них відносяться етикетки на упаковках з сировиною, карантинні етикетки, мітки на випущеній серії препарату, етикетки на викиданих виробах, таблички з місця розташування конкретних місць зберігання, попереджувальні знаки про біологічну або радіоактивну небезпеку, тарілки для виробничих майданчиків з обмеженим доступом, таблички на обладнанні з написом «оброблено» або «під обробкою», етикетки на проміжних продуктах і етикетки на готовій продукції. Це забезпечує ідентифікацію і відстеження наявних матеріалів, етап технологічного процесу і створює умови для адекватного функціонування обладнання. Керівні принципи ВООЗ щодо практики виробництва, а також всі інші національні та міжнародні Керівні принципи та Правила GMP, підкреслюють необхідність повного пакету документів.

3.2 Документи і положення ВООЗ

Визначення поствакцинального імунітету рекомендується для обмеженої групи пацієнтів, в яку входять особи, що знаходяться на гемодіалізі, з порушеннями імунної системи і пацієнти з ВІЛ-інфекцією. Імунологічні дослідження слід проводити через 1-2 місяці після завершення курсу щеплень. Також рекомендується періодично проводити його персоналу, який контактує з пацієнтами з ГВ або з їх кров'ю.

Особи, у яких захисні титри не були виявлені, підлягають повторній потрійній вакцинації відповідно до схеми 0 – 1 – 4 місяців з подальшим визначенням вмісту антитіл. Ті, хто залишається серонегативним після другого курсу вакцинації, після виключення зараження вірусом ВГВ, вважаються сприйнятливими до цієї інфекції, екстрена профілактика якої, при необхідності, проводиться імуноглобуліном проти ВГВ у відповідній віку дозуванні. Збільшення охоплення вакцинацією різних вікових груп населення і вдосконалення тактики вакцинопрофілактики призвело до різкого зниження захворюваності на гостру форму ВГВ.

Якщо в довакцинаційний період (1982 р.) в США було зареєстровано 22 177 випадків ОГВ, то в 1995 р. їх число скоротилося до 10 805, в 2005 р. - до 5494, в 2012 р. - до 2895 [22]. Найбільш швидке зниження було досягнуто у віковій групі до 18 років і у пацієнтів, які перебувають на гемодіалізі. Так, вже в 2005 році захворюваність в першій групі знизилася на 76%, у Другій – на 95%, а в 2012 році перинатальна інфекція була зареєстрована всього у 40 дітей. Аналогічна картина спостерігалася.

У зв'язку з масштабною вакцинацією відзначається неухильне зниження захворюваності гострими і хронічними формами (ХГВ). Якщо в 1995 році показник захворюваності ВГС в країні становив 35 на 100 тисяч населення, то в 2009 році цей показник знизився до 2,7, а в 2013 році - до 1,33. З 2003 року на перший план вийшов ВГС, показник захворюваності яким в 2013 році склав 11,71 на 100 тисяч у дітей у віці до 14 років

Визначення поствакцинального імунітету рекомендується для обмеженої групи пацієнтів, в яку входять особи, що знаходяться на гемодіалізі, з порушеннями імунної системи і пацієнти з ВІЛ-інфекцією. Імунологічні дослідження слід проводити через 1-2 місяці після завершення курсу щеплень. Також рекомендується періодично проводити його персоналу, який контактує з пацієнтами з ГВ або з їх кров'ю.

Особи, у яких захисні титри не були виявлені, підлягають повторній потрійній вакцинації відповідно до схеми 0 – 1 – 4 місяців з подальшим визначенням вмісту антитіл. Ті, хто залишається серонегативним після другого курсу вакцинації, після виключення зараження вірусом ВГВ, вважаються сприйнятливими до цієї інфекції, екстрена профілактика якої, при необхідності, проводиться імуноглобуліном проти ВГВ у відповідній віку дозуванні. Збільшення охоплення вакцинацією різних вікових груп населення і вдосконалення тактики вакцинопрофілактики призвело до різкого зниження захворюваності на гостру форму ВГВ.

Якщо в довакцинаційний період (1982 р.) в США було зареєстровано 22 177 випадків ОГВ, то в 1995 р. їх число скоротилося до 10 805, в 2015 р. - до 5494, в 2018 р. - до 2895 [22]. Найбільш швидке зниження було досягнуто у віковій групі до 18 років і у пацієнтів, які перебувають на гемодіалізі. Так, вже в 2005 році захворюваність в першій групі знизилася на 76%, у Другій – на 95%, а в 2018 році перинатальна інфекція була зареєстрована всього у 40 дітей.

в 1995 році показник захворюваності ВГС в країні становив 35 на 100 тисяч населення, то в 2009 році цей показник знизився до 2,7, а в 2018 році - до 1,33. З 2008 року на перший план вийшов ВГС, показник захворюваності яким в 2021 році склав 11,71 на 100 тис.у дітей у віці до 14 років тактика вакцинації осіб, які могли бути інфіковані травматичним пошкодженням шкіри або слизових оболонок, залежить від їх історії вакцинації (статусу) і ймовірності зараження.

Найбільш повно він описаний в" Зеленій книзі", періодично видається Міністерством охорони здоров'я Великобританії [6]. Введення імуноглобуліну

рекомендується проводити якомога швидше після можливого зараження (бажано в перші 48 годин) в дозах: новонародженим і дітям 0-4 років - 200 МО; дітям 5-9 років - 300 МО; дітям від 10 років і дорослим - 500 МО. Канадські керівні принципи імунізації також вважають, що якщо можливе зараження через пошкоджену шкіру і слизові оболонки, тактика вакцинації цієї групи людей повинна грунтуватися на результатах обстеження джерела потенційної інфекції та історії вакцинації жертви.

Результати цих досліджень повинні бути отримані не пізніше, ніж через 48 годин. За показаннями протягом перших 48 годин (але не пізніше 7 днів) внутрішньом'язово вводять специфічний імуноглобулін (для дітей старшого віку і дорослих – 0,06 мл/кг) і починають вакцинацію [8]. Аналогічний підхід до вакцинації цієї категорії пацієнтів передбачений рекомендаціями Комітету з вакцинації (STIKO) при Інституті Роберта Коха, Німеччина [36]. Якщо вміст АНТИНІВ дорівнює або перевищує 100 мМО/мл, потерпілий вважається захищеним від інфекції, при рівні антитіл 10-99 мМО/мл він підлягає вакцинації, якщо вміст становить менше 10 мМО/мл, необхідна вакцинація і введення імуноглобуліну проти гепатиту В.

У США профілактика медичного персоналу в разі можливої інфекції визначається спеціальним керівництвом CDC [37]. Медичний персонал, який має документальне підтвердження вакцинації і результати подальшого визначення рівня антитіл до HBsAg, Рівного 10 мМО/мл, вважається захищеним. У той же час джерело інфекції (якщо такий є) не вимагає серологічного дослідження. Медичний персонал, який має документальне підтвердження потрійної вакцинації, але має антитіла в титрі менше 10 мМО/мл, підлягає додатковій імунізації, хід якої залежить від результатів вірусологічного обстеження джерела інфекції, яке повинно бути проведено якомога швидше.

Якщо виявлено Hbsad або неможливо провести дослідження, потерпілий повинен отримати специфічний імуноглобулін в дозі 0,06 мл / кг двічі з місячним інтервалом. Якщо Hbsad не виявлено в джерелі інфекції, жертві не

дають ні вакцину, ні імуноглобулін. Медичний персонал, який має документальне підтвердження триразової вакцинації, але не має документального підтвердження результатів серологічного дослідження, визначає антитіла. У той же час джерело інфекції визначається Hbsad. Якщо вміст анти-Hbsad становить менше 10 мМО / мл і є Hbsad (або визначити останнє неможливо), жертві якомога швидше вводять вакцину і специфічний імуноглобулін, А потім проводять дві залишилися щеплення другого курсу вакцинації.

Якщо рівень антитіл становить менше 10 мМО / мл і Hbsadnegative джерело інфекції, жертва отримує одну дозу вакцини з подальшим визначенням антитіл. Залежно від результату повторний курс вакцинації вважається завершеним або він завершується подвійною ін'єкцією вакцини. Групи людей похилого віку, які не є теплими особами, які перебувають у сексуальному або близькому сімейному контакті з пацієнтом з ОГВ або носієм вірусу, повинні бути вакциновані відповідно до однієї зі стандартних схем з виявленням антитіл через 1 і 6 місяців після завершення повного курсу. У разі сімейного контакту з пацієнтом з ОГВ введення специфічного імуноглобуліну не показано.

Одночасне введення імуноглобуліну і вакцини в перші 24 години зараження запобігає розвитку захворювання в 100% випадків. Одноразова ін'єкція специфічного імуноглобуліну не пізніше ніж через два тижні після статевого контакту з інфікованим партнером запобігає зараженню в 75% випадків. Всіх нещеплених сексуальних партнерів осіб з ОГВ, повинні бути щеплені згідно зі схемою 0 – 1 – 6 місяців (або 0 – 1 – 4 місяців або 0 – 2 – 4 у разі порушення схеми вакцинації) з однократної внутрішньом'язової введення імуноглобуліну проти ГВ в дозі 0,06 мл/кг не пізніше, ніж за 14 календарних днів (переважно протягом перших двох днів після статевого контакту. Через 1 місяць допускається повторне введення імуноглобуліну.

Побічні ефекти вакцини GW генно-інженерні вакцини проти гепатиту В мають низьку реактогенність. Найбільш поширеними реакціями є біль у місці

ін'єкції (3-28 %) і короткочасне підвищення температури більш ніж на 37,7 °С (1 – 6%) [22]. Вакцина Фендрікс є більш реактогенним препаратом. У вкрай рідкісних випадках вакцинація призводить до розвитку анафілактичного шоку (1 випадок на 1 – 1,1 мільйона вакцинованих) [32] та інших проявів негайних алергічних реакцій.

Опублікована в пресі інформація про зв'язок вакцинації проти ГВ з подальшим розвитком дифузного склерозу або провокацією загострення цього захворювання після ретельного дослідження глобального комітету з безпеки вакцин (GACVS) не підтвердилася. Незважаючи на це, в ряді зарубіжних інструкцій для медичного застосування зазначено, що введення вакцини проти гепатиту може викликати загострення дифузного склерозу. ВООЗ, грунтуючись на результатах аналізу, проведеного GACVS, також зробила висновок про відсутність епідеміологічних даних, що вказують на причинно–наслідковий зв'язок між вакцинацією проти ГВ і розвитком синдрому хронічної втоми, артриту, аутоімунних розладів, астми, діабету, синдрому Гійена-Барре, раптової смерті від синдрому [32, 38-41]

3.3 Контроль якості вакцини проти гепатиту В

Вакцина проти гепатиту В - один із найкращих способів боротьби з хворобою. Це безпечно, ефективно та широко доступно. Понад мільярд доз вакцини вводять у всьому світі з 1982 року. Всесвітня організація охорони здоров’я (ВООЗ) заявляє, що вакцина на 98-100% ефективно захищає від вірусу.

Система оцінки безпеки вакцин включає 5 рівнів контролю: випробування нових вакцин розробником і національним органом контролю, контроль вакцин на виробництві, сертифікація серій вакцин Центру експертизи Міністерства охорони здоров'я України, інспектування підприємств і держконтроль відповідності якості вакцин на місцях їх застосування [63].

1. На першому етапі державний нагляд передбачає проведення експертизи нормативної документації, лабораторного контролю експериментальних, експериментально-виробничих і перших виробничих серій вакцин, а також клінічних випробувань вакцин на їх безпеку.

Для забезпечення безпеки вакцин повинні бути вивчені і охарактеризовані властивості вакцинного штаму, клітинного субстрату, властивості напівфабрикату і кінцевого продукту. Вимогами до специфічної безпеки вакцин є повнота інактивації токсинів, бактерій, вірусів, відсутність залишкової вірулентності (або реверсії вірулентності) і контамінації для виробничих штамів - наявність генетичної стабільності і генетичної гомогенності.

Вакцини повинні бути оцінені на імунологічну безпеку по здатності викликати специфічні і неспецифічні порушення в імунній системі, які можуть бути причиною виникнення імунодефіцитних станів, алергії та інших видів іммунопатології. Існують також жорсткі вимоги до безпеки стабілізаторів, консервантів, ад'ювантов, розчинників і інших реагентів. Серії вакцин перевіряються на стерильність, токсичність (гостру і хронічну), пірогенність (здатність підвищувати температуру тіла).

Варто зазначити, що в Україні існує система державних випробувань, які проводяться під керівництвом контрольного інституту із застосуванням препаратів порівняння, подвійного сліпого методу та інших принципів контрольованих випробувань без участі розробників. Всі серії вакцин, що застосовуються в цих випробуваннях, повинні пройти лабораторний контроль. Вакцини оцінюють спочатку на дорослих людях, а потім - на дітях. При цьому використовується принцип інформованої згоди осіб, які беруть участь у випробуваннях вакцин.

На початку промислового випуску нової вакцини національний орган контролю перевіряє 5 перших виробничих серій вакцини і проводить сертифікацію її виробництва. На підставі виданого сертифіката підприємство може отримати ліцензію на право виробництва і реалізації препарату.

2. Контроль якості вакцин на підприємствах-виробниках передбачає обов'язковий поетапний контроль матеріалу на безпеку на різних стадіях технологічного процесу (вхідний контроль вихідної сировини, контроль напівфабрикату і готової продукції).

На кожному підприємстві існує своя контрольна лабораторія. Територіально вона відокремлена від виробництва і володіє відносною незалежністю. Керівник лабораторії підпорядкований безпосередньо директору підприємства, будучи його заступником за якістю. Важливою особливістю системи є дублювання контролю продукції, який проводиться виробничими підрозділам. Це значно підвищує ступінь гарантії безпеки вакцин. При виробництві та контролі вакцин підприємства широко використовують стандарти, розроблені ними на основі стандартів Міністерства охорони здоров'я України.

При контрольній лабораторії знаходиться музей юридичних зразків серій препаратів, що відправляються підприємством споживачам. Зразки призначені для повторного контролю препаратів в разі рекламації, незадовільних результатів контролю Міністерства охорони здоров'я України або при необхідності спостереження за зміною якості препаратів в процесі їх зберігання.

3. Всі вакцини, які застосовуються на території України, підлягають обов'язковій державній сертифікації, перевірці відповідності окремих серій вакцин вимогам нормативної документації. З огляду на особливості нагляду за якістю вакцин, Держстандарт України зареєстрував в 1997 році самостійну систему сертифікації МІБП (Медичні Імунобіологічні Препарати), відмінну від системи сертифікації інших лікарських засобів.

Існує кілька видів сертифікаційного контролю серій вакцин: вибірковий і суцільний, попередній і наступний, контроль за паспортами і виробничим протоколам та ін. Серії надходять від підприємства в плановому порядку, вилучаються зі складу підприємств або з місць зберігання в зв'язку з рекламацією, а також з місць застосування в разі появи поствакцинальних

реакцій. Для всіх вакцин національного календаря щеплень і вакцини проти жовтої лихоманки введений так званий предреалізаційний контроль вакцин за зведеними протоколами їх виробництва.

Такі протоколи складаються на підприємствах за формами, рекомендованими ВООЗ, і направляються в контрольний інститут. Підприємство не має права відвантажувати вакцину споживачеві без укладення центру експертизи Міністерства охорони здоров'я України.

4. Наступною формою державного контролю вакцин є інспектування підприємств з метою перевірки дотримання вимог GMP, що гарантують безпеку комерційних препаратів. Інспектування підприємств обов'язково при видачі дозволу на випуск нового препарату, при перегляді або перезатвердження нормативної документації на препарат, а також у зв'язку з погіршенням якості продукції, що випускається. Крім того, вимоги ВООЗ передбачають планове регулярне інспектування підприємств не рідше одного разу на два роки.

5. Державний контроль за якістю вакцин на місцях їх застосування покладено на органи і установи Держспоживінспекції України. Вони повинні стежити за дотриманням правил зберігання, транспортування та реалізації препаратів, щоб забезпечити безпеку пацієнта, медичного працівника та населенню в цілому.

При транспортуванні і зберіганні вакцин необхідно дотримуватися умови, що забезпечують їх збереження від механічних пошкоджень і несприятливого впливу температури навколишнього середовища. Транспортування вакцин має здійснюватися в спеціальних контейнерах з Термоіндикатори або авторефрижераторним транспортом при температурі від +2 до +8 С.

Центр експертизи Міністерства охорони здоров'я України розробляє вимоги до вакцин і виробляє експертизу нормативної документації на препарати. В документації на препарат (інструкція із застосування, регламент) представлені граничні концентрації добавок, домішок, дані допустимі

параметри побічних реакцій на введення вакцин. Зазначені документи піддаються експертизі в спеціальних експертних лабораторіях Міністерства охорони здоров'я України, які курують окремі групи препаратів в лабораторіях загального призначення (контамінації, стерильності, біохімії, фізичних методів дослідження та ін.), А також в лабораторії стандартизації нормативної документації. Результати експертизи документації,

Всі матеріали з висновком Вченої ради передаються в Комітет імунобіологічних препаратів, який є експертним органом при Міністерстві охорони здоров'я України. У функції комітету входять оцінка результатів лабораторних випробувань вакцин, затвердження програм випробувань, чергова експертиза нормативної документації, прийняття рекомендацій по реєстрації нових вітчизняних і зарубіжних препаратів або по вилученню застарілих вакцин з практики охорони здоров'я.

Національний орган контролю МІБП має право забороняти застосування вакцини при невідповідності її якості встановленим вимогам, переводити контроль вакцини з вибіркового на суцільний, призупиняти дію раніше виданого сертифіката на право виробництва вакцини, представляти МОЗ України матеріали для вирішення питання про припинення виробництва застарілих вакцин або вакцин, які не відповідають за якістю встановленим вимогам.

Існують також і міжнародні вимоги до проведення випробувань вакцин, які використовуються у нас в країні.

Етапи випробувань наступні:

1. Доклінічні – процес ретельного і всебічного вивчення препарату на експериментальному рівні, в результаті якого підтверджується максимальна безпека при використанні вакцин для людей.
2. Клінічні - проводяться за участю людей, за їх результатами вирішується питання про доцільність застосування препарату в практиці охорони здоров'я. Також на цьому етапі виходить докладніша інформація про дозування, схеми прийому, відомості про можливі побічні реакції або

небажані явища, пов'язаних з прийомом препарату, про протипоказання до його застосування і т.д.

На всіх сучасних виробництвах існують загальні вимоги до проведення клінічних випробувань.

Ці вимоги базуються на захисті прав і гідності людини, визначених у Гельсінській декларації 1964 році підписаної керівниками всіх країн світу. Основні з них: добровільну участь, повна інформованість учасників про цілі, завдання, користь дослідження, а також про можливі небажані явища, пов'язані з введенням препарату, обов'язкове страхування добровольців, гарантія надання їм при необхідності кваліфікованої медичної допомоги в повному обсязі, конфіденційність отриманих даних, можливість відмови від участі у випробуваннях на будь-якому їх етапі.

В Україні прийнятий закон про лікарські засоби, в якому визначені етичні та правові аспекти проведення клінічних випробувань: наявність програми (протоколу), в якому викладаються цілі та завдання, методика проведення, обсяг і терміни дослідження, клінічні бази, на яких буде здійснюватися робота, а також етичні та правові аспекти. Протокол проходить експертну оцінку різними установами та фахівцями і на кінцевому етапі схвалюється Комітетом з етики при Міністерстві здоров’я України. При експертизі протоколів клінічних випробувань етичними комітетами на першому місці стоять інтереси учасників експерименту (пацієнтів і лікарів), а не мета випробувань.

Схема клінічного дослідження вакцин [64]:

Перший етап - тільки дорослі добровольці, лише після отримання позитивних результатів випробування проводяться на дітях, причому з поступовим переходом від старших вікових груп до молодших. Діти беруть участь тільки з письмової згоди батьків.

Граничні концентрації домішок і добавок у вакцинах вказані в нормативній документації, вони не повинні перевищувати лімітів, встановлених ВООЗ.

Тільки після успішного проходження цих етапів випробування, препарат затверджується до використання.

Але на цьому дослідження не закінчуються.

Далі слід робота зі збору інформації про можливі небажані явища, пов'язані з вакцинацією, а також оцінка впливу імунізації на зниження захворюваності - тобто, ефективність вакцин. Ця робота, що проводиться постійно, дозволяє отримати повну інформацію по всебічній оцінці нового препарату.

Так, на підставі спостережень за використанням вакцин, збирається величезна кількість статистичної інформації, за якою можна судити про їхню якість і порівнювати ефективність з аналогами, що випускаються іншими виробниками.

Кожен етап проводиться дуже ретельно. Залежно від захворювання процес від відкриття до клінічного широкомасштабного випробування вакцин може тривати і більше 10 років. На самому останньому етапі, коли проводяться широкомасштабні випробування вакцин-кандидатів на здорових пацієнтах, визначається ефективність вакцини і побічні реакції. Число випробовуваних становить тисячі чоловік, а тривалість спостереження визначається, виходячи з результатів, отриманих на попередніх етапах випробувань, і зазвичай обмежується 1-2 роками (але не менше 6 місяців).

Управління якістю у фармацевтичній галузі розглядається в Керівних принципах МОЗ щодо GMP для фармацевтики . У цьому документі представлені наступні основні елементи управління якістю, які включають:

- відповідну інфраструктуру або «систему якості», яка включає організаційну структуру, встановлені процедури, процеси та ресурси;

- систематичні дії, необхідні для отримання достатньої впевненості в тому, що продукт (або форма обслуговування) буде відповідати вимогам якості. Весь комплекс дій такого роду називається «забезпечення якості».

Поняття забезпечення якості, GMP та контролю якості є взаємопов'язаними аспектами управління якістю. Ці компоненти є «фундаментальними для виробництва та контролю фармацевтичної продукції».

Концепція QA (Quality Assurance – Забезпечення якості) передбачає проведення всіх видів діяльності, метою яких є забезпечення того, щоб фармацевтична продукція відповідала рівню якості, притаманному їх цільовому використанні. Не всі документи GMP описують концепцію забезпечення якості, принципи забезпечення якості, викладені в керівних принципах МОЗ GMP, покликані забезпечити наступне: дотримання правил GMP та інших наборів нормативних вимог (належна практика проведення (доклінічні) лабораторні дослідження (GLP) та належна практика в клінічних випробуваннях (GCP)); чітке роз'єднання обов'язків; проведення в встановленому порядку всіх видів випробувань, перевірок, калібрувань, валідації і т.д.; продаж продукції тільки після оформлення необхідних дозволів; правильне поводження з продукцією протягом усього періоду зберігання на складі; та формальну процедуру внутрішнього нагляду (аудит якості).

3.4 Імуногенність, клінічна дієвість і ефективність

В даний час широко використовуються вакцини проти гепатиту В другого покоління, одержувані в біотехнологічних еукаріотичних системах на основі дріжджів і містять s-білковий домен частинки HBsAg при повній відсутності доменів pre-S1 і pre-S2. Разом з тим доведено, що саме ці антигени можуть значно впливати на імуногенність, що робить розробку і використання вакцин третього покоління, що містять всі антигенні детермінанти, перспективним завданням.

Для порівняльного вивчення імуногенності вакцин другого і третього поколінь Engerix-B™ і Sci-B-Vac™ було проведено рандомізоване подвійне сліпе клінічне дослідження. У дослідження були включені здорові особи обох статей у віці від 18 до 45 років (n = 94), серонегативні щодо HBsAg, HBsAb, HBcAb при скринінгу і раніше не отримували імунобіологічні засоби

профілактики гепатиту В.у групу I (n = 47) увійшли особи, які отримали вакцину другого покоління Engerix-B™, в групу II (n = 47) – вакцину третього покоління Sci-b-Vac™.

Вакцинація здійснювалася триразово - в 1, 28 і 180 дні дослідження. Концентрація HBsAb, показники сероконверсії (частка осіб з концентрацією HBsAb > 2,1 мМО/мл) і серопротекции (частка осіб з концентрацією HBsAb ≥ 10 мМО/мл) оцінювалися на 28, 90, 180 і 210 день дослідження. При оцінці показника ранньої сероконверсії на 28 день дослідження встановлено, що він склав 76,60% в групі I і 93,88% в групі II ($p < 0,05$); показник серопротекции склав 51,06 і 61,22% відповідно. Дані відмінності щодо частки осіб, які досягли сероконверсії на 28 день дослідження, можуть свідчити про настання більш швидкої імунологічної відповіді на введення вакцини Sci-b-Vac™. При аналізі середніх значень концентрації HBsAb в групах I і II були отримані дані про наявність статистично значущих відмінностей між рівнем антитіл на 90 і 180 день дослідження ($p < 0,05$).

На 90 день дослідження в групі I концентрація HBsAb склала 378,68±60,95 мМО/мл, в групі II — 618,31±58,34 мМО/мл. На 180 день дослідження в групі I концентрація HBsAb досягла 441,34±63,83 мМО/мл, в групі II — 757,72±55,14 мМО/мл.проведений аналіз значущості залежності рівня антитіл від статі, віку і маси тіла виявив, що вік вакцинованого впливає на концентрацію антитіл після вакцинації Engerix-B™ ($p < 0,05$).

Таким чином, отримані результати дозволяють зробити висновок про наявність швидкої і сильної імунної відповіді на введення вакцини третього покоління Sci-B-Vac™, що може свідчити про перевагу вакцини, що містить всі три рекомбінантних білка оболонки вірусу гепатиту В, що, в свою чергу, може зіграти вирішальну роль в клінічній практиці при екстреній профілактиці гепатиту В, а також при використанні у пацієнтів з імунокомпроментованими станами. Через 1-4 місяці після початкового курсу з трьох щеплень можна взяти пробу крові для з'ясування, чи є адекватний імунну відповідь, за який

приймається рівень антитіл до HbsAg вірусу гепатиту В, відомих як анти-HbsAg, вище 100 мМО/мл.

Подібний повну відповідь спостерігають приблизно у 85-90 % індивідуумів. Рівень антитіл від 10 до 100 мМО/мл розглядають як слабку відповідь, такі люди повинні отримати одноразово повторну дозу вакцини без повторного обстеження. Рекомендується обстежити людей, які не дали імунної відповіді (з рівнем антитіл (анти-HBsAг) нижче 10 мМО/мл), щоб виключити гепатит В або наявність його в минулому, провести повторний курс з трьох щеплень, після повторного курсу – подальше обстеження через 1-4 місяці.

Ті особи, які не дадуть імунної відповіді на другий курс вакцинації, можуть потребувати більшої дози вакцини або в її внутрішньошкірному введенні [10]. Ті ж, хто і після цього не відповідатимуть, потребують введення імуноглобуліну проти гепатиту В (Іггб), якщо піддадуться ризику зараження [9]. слабкі імунні відповіді в основному пов'язані з віком щеплених старше 40 років, з надмірною вагою і курінням [11], відзначаються у алкоголіків, особливо, в разі прогресування алкоголізму.

Хорі, які отримують імуносупресивну терапію або знаходяться на нирковому діалізі, можуть давати недостатню імунну відповідь і потребувати великих дозах вакцини або більш частому її введенні [9]. Принаймні, одне дослідження говорить про те, що щеплення проти гепатиту В була менш ефективна у ВІЛ-позитивних пацієнтів [13]. Виробники вакцини стверджують, що вона захищає не тільки від гепатиту В, але і від гепатиту D, який без вірусу В не розвивається.

Висновки до розділу 3

Вакцина проти вірусу гепатиту В - це лікарський засіб, група вакцин проти гепатиту В, від різних виробників. Хоча вакцинація є лише одним з декількох способів запобігання захворюванням, викликаним вірусом гепатиту В, з його гігантського резервуара інфекції в світі, цей метод останнім часом отримав значний розвиток, в першу чергу завдяки технологіям генної інженерії.

В даний час вакцинація дітей в ранньому віці застосовується більш ніж в 160 країнах світу. Щоб уникнути зараження вірусом гепатиту В необхідно: при контакті з кров'ю використовувати бар'єрні засоби (рукавички, презерватив), не використовувати звичайні та інфіковані голки і шприци для введення засобів, не нехтувати елементарної гігієною (особиста зубна щітка, бритва, мочалка), не допускати пірсинг, стрижки і манікюр необроблених або нестерильним інструментом, не здавати кров, якщо у вас є носій вірусу гепатиту В. Організаційні та інші заходи проводяться в медичних установах.

ВИСНОВКИ

В останні роки вірусний гепатит став головною не лише медичною, а й соціально-економічною проблемою. Сучасні методи боротьби з вірусом гепатиту В (ВГВ) визначають комплексний підхід, спрямований на три частини епідемічного процесу - джерела вірусу, розрив передачі вірусу, захист сприйнятливої популяції. Імунопрофілактика залишається найефективнішим і тривалим засобом захисту від ВГВ.

Універсальна масова вакцинація дітей першого року життя проти ВГВ захищає дітей раннього віку, запобігає небезпечним для життя наслідкам інфекції - хронічним захворюванням та можливості цирозу, гепатоцелюлярної карциноми в майбутньому.

Впровадження гнучких схем щеплень, рекомендованих ВООЗ, до Національного календаря щеплень, двома або трьома дозами вакцини проти ВГВ у складі комбінованої гексавалентної вакцини збільшить рівень охоплення вакцинацією проти ВГВ в Україні щонайменше до рівня охоплення трьома дозами КДП, одночасно знизивши кількість ін’єкцій дітям та візитів у поліклініку, що сприятиме покращанню та своєчасності вакцинації.

Наявна в даний час вакцина проти гепатиту В є безпечною та високоефективною у профілактиці інфекції гепатиту В, але впровадження універсальної вакцинації та своєчасна доза при народженні є неоптимальними. Хоча вакцина проти гепатиту В видається термостабільною, і вакцина, що зберігається при температурі навколишнього середовища, має еквівалентну ефективність, як вакцина проти гепатиту В, що зберігається в холодному ланцюзі, потрібно більше доказів про ефективність вакцини проти гепатиту В, що транспортується та зберігається в навколишньому середовищі.

Буде дуже цінним вдосконалити впровадження універсальної вакцинації проти гепатиту В та своєчасну дозу народження в обмежених ресурсами регіонах та віддалених районах. Розробка дводозової вакцини, що

застосовується у немовлят зі порівнянною ефективністю, буде зручнішою для здійснення універсальної вакцинації проти гепатиту В.

Одним із першочергових завдань вдосконалення національної стратегії імунопрофілактики в Україні є дотримання курсу міжнародної стратегії боротьби з ВГВ. Введення в Національний календар щеплень гнучких схем щеплень, рекомендованих ВООЗ, двома-трьома дозами вакцини проти ВГВ як частини комбінованої шестивалентної вакцини збільшить охоплення щепленням від ВГВ в Україні щонайменше до трьох рівнів вакцинації. до клініки, що покращить своєчасність та своєчасність вакцинації.

Вакцина проти вірусу гепатиту В - це лікарський засіб, група вакцин проти гепатиту В, від різних виробників. Хоча вакцинація є лише одним з декількох способів запобігання захворюванням, викликаним вірусом гепатиту В, з його гігантського резервуара інфекції в світі, цей метод останнім часом отримав значний розвиток, в першу чергу завдяки технологіям генної інженерії. В даний час вакцинація дітей в ранньому віці застосовується більш ніж в 160 країнах світу. Щоб уникнути зараження вірусом гепатиту В необхідно: при контакті з кров'ю використовувати бар'єрні засоби (рукавички, презерватив), не використовувати звичайні та інфіковані голки і шприци для введення засобів, не нехтувати елементарної гігієною (особиста зубна щітка, бритва, мочалка), не допускати пірсинг, стрижки і манікюр необроблених або нестерильним інструментом, не здавати кров, якщо у вас є носій вірусу гепатиту В. Організаційні та інші заходи проводяться в медичних установах.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Вірусний гепатит В. НВ-вірусна інфекція. Вид. 2-ге, доп. і переробл. / Герасун Б. А. — Львів, 2009. — 260 с.

2. Вірусні гепатити. Енциклопедичний словник. Російсько-українське видання / Балаян М. С., Міхайлов М. І. За ред. Б. А. Герасуна. — Львів: ЛДМУ, 2000. — 572 с..

3. Вірусні гепатити з парентеральним шляхом передачі: збудники, маркери інфекції, поширення та лабораторна діагностика: навч. посіб. — Суми: Сумський держ. ун-т, 2018. — 236 с.

4. Зверев В. В. Вакцины и вакцинация: Национальное руководство / В. В. Зверев, 2011. — 872 с.

5. Крамарев С. А. Лечение хронических вирусных гепатитов у детей / С. А. Крамарев // Рац. фармакотерапія. – 2008. – № 1.

6. Крамарев С. А. Универсальная массовая вакцинация детей раннего возраста – стратегия выбора в профилактике гепатита В / С. А. Крамарев // Здоровье ребенка. – 2010. – N 4.

7. Кресан К.М., Волошина И.М. Применение комплексной терапии при лечении новорожденных телят, больных диспепсией // Актуальные проблемы лечения и профилактики болезней молодняка: [Электронный ресурс] материалы Международной научно-практической конференции, Витебск, 3 – 5 ноября 2021 г. / УО ВГАВМ; редкол.: Н.И. Гавриченко (гл. ред.) [и др.]. – Витебск: ВГАВМ, 2021, С. 48-52.

8. Лапій Ф. І. Вакцинація дітей за схемами, що не передбачені календарем вакцинації за віком / Ф. І. Лапій // ПАГ. — 2013. — Т. 77/2. — С. 17—20.

9. Наказ МОЗ України від 18.05.18 № 947 «Про внесення змін до Календаря профілактичних щеплень в Україні».

10. Наказ МОЗ України від 11.10.2019 р. № 2070, зареєстрованого в Міністерстві юстиції України 26 листопада 2019 року за № 1182/34153 «Про внесення змін до Календаря профілактичних щеплень в Україні та Переліку медичних протипоказань до проведення профілактичних щеплень».

11. Современные организационные и методические принципы вакцинации детей проти гепатита В / Ботвиньева В. В., Галицкая М. Г., Радионова Т. В. [и др.] // Педиатрич. Фармакол. — 2011. — Т. 8, № 1. — С. 6—10.

12. Шагинян В. Р. Гепатит В: контроль, эрадикация, элиминация? / В. Р. Шагинян, Т. А. Сергеева // Укр. мед. часоп. — 2011. — № 1 (81). — С. 25—28.

13. A two-dose hepatitis B vaccine for adults (Heplisav-B). JAMA. 2018;319(8): 822–23. doi:10.1001/jama.2018.1097.

14. Abara WE, Qaseem A, Schillie S, McMahon BJ, Harris AM. High value care task force of the American college of physicians and the centers for disease control and prevention. Hepatitis B vaccination, screening, and linkage to care: best practice advice from the American college of physicians and the centers for disease control and prevention. Ann Intern Med. 2017;167(11):794–804

15. Ang LW, Cutter J, James L, Goh KT. Seroepidemiology of hepatitis B virus infection among adults in Singapore: a 12-year review. Vaccine. 2013;32(1):103–10

16. Braun LJ, Jezek J, Peterson S, Tyagi A, Perkins S, Sylvester D, Guy M, Lal M, Priddy S, Plzak H, et al. Characterization of a thermostable hepatitis B vaccine formulation. Vaccine. 2009;27(34): 4609–14.

17. Breakwell L, Anga J, Dadari I, Sadr-Azodi N, Ogaoga D, Patel M. Evaluation of storing hepatitis B vaccine outside the cold chain in the Solomon Islands: identifying opportunities and barriers to implementation. Vaccine. 2017;35(21):2770–74.

18. Bruce MG, Bruden D, Hurlburt D, Zanis C, Thompson G, Rea L, Toomey M, Townshend-Bulson L, Rudolph K, Bulkow L, et al. Antibody levels and protection after hepatitis B vaccine: results of a 30-year follow-up study and response to a booster dose. J Infect Dis. 2016;214(1): 16–22.

19. Buynak EB, Roehm RR, Tytell AA, Bertland AU 2nd, Lampson GP, Hilleman MR. Development and chimpanzee testing of a vaccine against human hepatitis B. Proc Soc Exp Biol Med. 1976;151(4):694–700.

20. Chang MH, Shau WY, Chen CJ, Wu TC, Kong MS, Liang DC, Hsu HM, Chen HL, Hsu HY, Chen DS. Hepatitis B vaccination and hepatocellular carcinoma rates in boys and girls. JAMA. 2000;284(23):3040–42.

21. Cheung KW, Seto MTY, Kan ASY, Wong D, Kou KO, So PL, Lau WL, Jalal K, Chee YY, Wong RMS, et al. Immunoprophylaxis failure of infants born to hepatitis B carrier mothers following routine vaccination. Clin Gastroenterol Hepatol. 2018;16(1): 144–45

22. Fanning GC, Zoulim F, Hou J, Bertoletti A. Therapeutic strategies for hepatitis B virus infection: towards a cure. Nat Rev Drug Discov. 2019;18(11):827–44.

23. Haber P, Moro PL, Ng C, Lewis PW, Hibbs B, Schillie SF, Nelson NP, Li R, Stewart B, Cano MV. Safety of currently licensed hepatitis B surface antigen vaccines in the United States, Vaccine Adverse Event Reporting System (VAERS), 2005–2015. Vaccine. 2018;36(4):559–64.

24. Harpaz R, McMahon BJ, Margolis HS, Shapiro CN, Havron D, Carpenter G, Bulkow LR, Wainwright RB. Elimination of new chronic hepatitis B virus infections: results of the Alaska immunization program. J Infect Dis. 2000;181(2):413–18

25. Heyward WL, Kyle M, Blumenau J, Davis M, Reisinger K, Kabongo ML, Bennett S, Janssen RS, Namini H, Martin JT. Immunogenicity and safety of an investigational hepatitis B vaccine with a toll-like receptor 9 agonist adjuvant (HBsAg-1018) compared to a licensed hepatitis B vaccine in healthy adults 40–70 years of age. Vaccine. 2013;31(46):5300–05.

26. Hilleman MR, McAleer WJ, Buynak EB, McLean AA. The preparation and safety of hepatitis B vaccine. J Infect. 1983;7(Suppl 1):3–8. doi:10.1016/s0163-4453(83)96465-4.

27. Hollinger FB, Liang JK. Hepatitis B virus. In: Knipe D, Howley P, Griffin D editors. Fields virology. 4th. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p. 2971–3036

28. Hu Y, Wu Q, Xu B, Zhou Z, Wang Z, Zhou YH. Influence of maternal antibody against hepatitis B surface antigen on active immune response to hepatitis B vaccine in infants. Vaccine. 2008;26(48):6064–67

29. Huang H, Ning M, Liu J, Chen J, Feng J, Dai Y, Hu Y, Zhou YH. Comparison of antibody response to hepatitis B vaccination in infants with positive or negative maternal hepatitis B e antigen (HBeAg) in cord blood: implication for the role of HBeAg as an immunotolerogen. Hum Vaccin Immunother. 2019;15(9):2183–8629.

30. Hyer R, McGuire DK, Xing B, Jackson S, Janssen R. Safety of a two-dose investigational hepatitis B vaccine, HBsAg-1018, using a toll-like receptor 9 agonist adjuvant in adults. Vaccine. 2018;36(19):2604–11.

31. Jourdain G, Ngo-Giang-Huong N, Harrison L, Decker L, Khamduang W, Tierney C, Salvadori N, Cressey TR, Sirirungsi W, Achalapong J, et al. Tenofovir versus placebo to prevent perinatal transmission of hepatitis B. N Engl J Med. 2018;378(10): 911–23.

32. Kane M. Reduced doses of hepatitis B vaccines: is it a good idea? Bull World Health Organ. 1995;73:529–30.

33. Khan J, Shil A, Mohanty SK. Hepatitis B vaccination coverage across India: exploring the spatial heterogeneity and contextual determinants. BMC Public Health. 2019;19(1):1263.

34. Krieg AM. CpG motifs in bacterial DNA and their immune effects. Annu Rev Immunol. 2002;20: 709–60.

35. Krugman S, Giles JP, Hammond J. Viral hepatitis, type B (MS-2 strain) prevention with specific hepatitis B immune serum globulin. JAMA. 1971;218(11):1665–70.

36. Li X, Dumolard L, Patel M, Gacic-Dobo M, Hennessey K. Implementation of hepatitis B birth dose vaccination–worldwide, 2016. Wkly Epidemiol Rec. 2018;93(7): 61–72.

37. Lin AW, Wong KH. Surveillance and response of hepatitis B virus in Hong Kong special administrative region, 1988–2014. Western Pac Surveill Response J. 2016;7(1):24–28.

38. Liu F, Guo Z, Dong C. Influences of obesity on the immunogenicity of hepatitis B vaccine. Hum Vaccin Immunother. 2017;13(5):1014–17.

39. Liu J, Bi Y, Xu C, Liu L, Xu B, Chen T, Chen J, Pan M, Hu Y, Zhou YH. Kinetic changes of viremia and viral antigens of hepatitis B virus during and after pregnancy. Medicine. 2015;94(45).

40. Lu Y, Liang XF, Wang FZ, Yan L, Li RC, Li YP, Zhu FC, Zhai XJ, Li J, Zhuang H. Hepatitis B vaccine alone may be enough for preventing hepatitis B virus transmission in neonates of HBsAg(+)/HBeAg(-) mothers. Vaccine. 2017;35(1):40–45.

41. Mandal S. Introduction of universal infant hepatitis B immunisation in the UK- paving the way to elimination. Hum Vaccin Immunother. 2019;15(2):440–43.

442. Maupas P, Chiron JP, Barin F, Coursaget P, Goudeau A, Perrin J, Denis F, Mar ID. Efficacy of hepatitis B vaccine in prevention of early HBsAg carrier state in children. Controlled trial in an endemic area (Senegal). Lancet. 1981;1(8215):289–92.

43. McAleer WJ, Buynak EB, Maigetter RZ, Wampler DE, Miller WJ, Hilleman MR. Human hepatitis B vaccine from recombinant yeast. Nature. 1984;307(5947):178–80.

44. McMahon BJ, Bulkow LR, Singleton RJ, Williams J, Snowball M, Homan C, Parkinson AJ. Elimination of hepatocellular carcinoma and acute hepatitis B in children 25 years after a hepatitis B newborn and catch-up immunization program. Hepatology. 2011;54(3):801–07.

45. Milne A, West DJ, Chinh DV, Moyes CD, Poerschke G. Field evaluation of the efficacy and immunogenicity of recombinant hepatitis B vaccine without HBIG in newborn Vietnamese infants. J Med Virol. 2002;67(3):327–33.

46. Mouchet J, Salvo F, Raschi E, Poluzzi E, Antonazzo IC, De Ponti F, Bégaud B. Hepatitis B vaccination and the putative risk of central demyelinating diseases -a systematic review and meta-analysis. Vaccine. 2018;36(12):1548–55

47. Ni YH, Chang MH, Jan CF, Hsu HY, Chen HL, Wu JF, Chen DS. Continuing decrease in hepatitis B virus infection 30 years after initiation of infant vaccination program in Taiwan. Clin Gastroenterol Hepatol. 2016;14(9):1324–30.

48. Patel MK, Le Calvez E, Wannemuehler K, Ségalin JM. Hepatitis B vaccination coverage and prevalence of hepatitis B surface antigen among children in French Polynesia, 2014. Am J Trop Med Hyg. 2016;94(6):1370–75.

49. Poland GA, Jacobson RM. Clinical practice: prevention of hepatitis B with the hepatitis B vaccine. N Engl J Med. 2004;351(27):2832–38

50. Ramírez-Soto MC, Ortega-Cáceres G, Cabezas C. Trends in mortality burden of hepatocellular carcinoma, cirrhosis, and fulminant hepatitis before and after roll-out of the first pilot vaccination program against hepatitis B in Peru: an analysis of death certificate data. Vaccine. 2017;35(31):3808–12.

51. Sablan BP, Kim DJ, Barzaga NG, Chow WC, Cho M, Ahn SH, Hwang SG, Lee JH, Namini H, Heyward WL. Demonstration of safety and enhanced seroprotection against hepatitis B with investigational HBsAg-1018 ISS vaccine compared to a licensed hepatitis B vaccine. Vaccine. 2012;30(16):2689–96.

52. Stevens CE, Taylor PE, Tong MJ, Toy PT, Vyas GN, Nair PV, Weissman JY, Krugman S. Yeast-recombinant hepatitis B vaccine. Efficacy with hepatitis B immune globulin in prevention of perinatal hepatitis B virus transmission. JAMA. 1987;257(19):2612–16.

53. Syed YY. DTaP-IPV-HepB-Hib vaccine (Hexyon®): an updated review of its use in primary and booster vaccination. Paediatr Drugs. 2019;21(5):397–408

54. Valenzuela P, Gray P, Quiroga M, Zaldivar J, Goodman HM, Rutter WJ. Nucleotide sequence of the gene coding for the major protein of hepatitis B virus surface antigen. Nature. 1979;280(5725):815–19.

55. Van Den Ende C, Marano C, Van Ahee A, Bunge EM, De Moerlooze L. The immunogenicity and safety of GSK's recombinant hepatitis B vaccine in adults:

a systematic review of 30 years of experience. Expert Rev Vaccines. 2017;16(8):811–32

56. Vesikari T, Xu J, Johnson DR, Hall J, Marček T, Goveia MG, Acosta CJ, Lee AW. Hepatitis B and pertussis antibodies in 4- to 5-year-old children previously vaccinated with different hexavalent vaccines. Hum Vaccin Immunother. 2019; 1–8

57. Whitacre DC, Peters CJ, Sureau C, Nio K, Li F, Su L, Jones JE, Isogawa M, Sallberg M, Frelin L, et al. Designing a therapeutic hepatitis B vaccine to circumvent immune tolerance. Hum Vaccin Immunother. 2019

58. WHO. Global Hepatitis Report. 2017. // [Електронний ресурс]. – Режим доступу: https://www.who.int/hepatitis/publications/global-hepatitis-report2017-executive-summary/en/.

59. WHO. Immunization coverage. Fact sheet. Updated 2019. July 15. // [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://www.who.int/mediacentre/ factsheets/fs378/en/

60. Wiesen E, Diorditsa S, Li X. Progress towards hepatitis B prevention through vaccination in the Western Pacific, 1990–2014. Vaccine. 2016;34(25):2855–2862.

61. Zahradnik JM, Heiberg D, Hollinger FB. Hepatitis B vaccine: immune responses in children from families with an HBsAg carrier. Vaccine. 1985;3(5):407–413.

62. Зіменковський А. Б., Пономаренко В. М, Матвійчук Б. О. Організація стандартизації медичних технологій в Україні. Львів, 2003. 192 с.

63. М. О. Калиняк, О. Б. Блавацька. Система контролю якості і безпеки та боротьби з фальсифікацією лікарських засобів: Методичні рекомендації. Львів, 2008. 44 с.

64. СТ-Н МОЗУ 42-7.7:2020 Настанова. Лікарські засоби. Керівництво щодо клінічної оцінки вакцин

ДОДАТОК А

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА И ПРОДОВОЛЬСТВИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ «ВИТЕБСКАЯ ОРДЕНА «ЗНАК ПОЧЕТА» ГОСУДАРСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ»

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ВЕТЕРИНАРНЫЙ ИНСТИТУТ ПАТОЛОГИИ, ФАРМАКОЛОГИИ И ТЕРАПИИ»

АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ БОЛЕЗНЕЙ МОЛОДНЯКА

МАТЕРИАЛЫ
Международной научно-практической конференции
(г. Витебск, 3-5 ноября 2021 г.)

Текстовое электронное издание
сетевого распространения

ISBN 978-985-591-134-1

© УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», 2021

УДК 619:616-053.2-084
ББК 48.71-8

ОРГКОМИТЕТ КОНФЕРЕНЦИИ:

Гавриченко Н.И. – ректор УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», доктор сельскохозяйственных наук, доцент, председатель;

Шабунин С.В. – доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии», сопредседатель;

Белко А.А. – проректор по научной работе УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», кандидат ветеринарных наук, доцент, зам. председателя;

Котарев В.И. – заместитель директора по науке ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии», доктор сельскохозяйственных наук, профессор;

Юшковский Е.А. – декан факультета ветеринарной медицины УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», кандидат ветеринарных наук, доцент;

Вишневец А.В. – декан биотехнологического факультета УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», кандидат сельскохозяйственных наук, доцент;

Дремач Г.Э. – начальник научного отдела УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», кандидат ветеринарных наук, доцент, секретарь.

Актуальные проблемы лечения и профилактики болезней молодняка : [Электронный ресурс] материалы Международной научно-практической конференции, Витебск, 3 – 5 ноября 2021 г. / УО ВГАВМ ; редкол. : Н. И. Гавриченко (гл. ред.) [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2021. – Режим доступа : http://www.vsavm.by. свободный. – Загл. с экрана. – Яз. рус.

В сборник включены работы сотрудников научных организаций Республики Беларусь, Российской Федерации, Республики Узбекистан, Украины и Ирака. Показаны достижения в области ветеринарной медицины, биотехнологии, заразной и незаразной патологии и других сферах научной деятельности.

УДК 619:616-053.2-084
ББК 48.71-8

В синусоидных капиллярах незначительное количество эритроцитов (таблица 2, рисунок г).

В 5 группе границы гепатоцитов слабо различимы. Цитоплазма гепатоцитов бледно окрашена и гетерохромна. Дегенерация, жировая дистрофия не выражена, в синусоидных капиллярах небольшое количество эритроцитов. В незначительном количестве встречаются сегментоядерные эозинофилы (таблица 2, рисунок д).

Перепелки-несушки, участвующие в эксперименте, отличались интенсивным метаболизмом и высокой продуктивностью. Масса снесенных яиц в контрольной (первой) группе составила 10,66±0,60 г, в опытных, 2-5 группах – 12,74-13,22 г. Чем напряженнее обмен веществ у птиц, тем более чутко они реагируют на различные факторы, способные изменить режим функционирования организма [9], что, отражается на морфоструктуре органов, в том числе печени.

Анализ таблицы 2 показал, что у перепелов 4 группы толщина капсулы меньше на 9,19% чем в контрольной группе и меньше по сравнению с другими опытными группами. Размер синусоидных капилляров у перепелов 2 группы имел тенденцию к уменьшению, у перепелов 3-5 групп был достоверно меньше чем в контроле на 11,81-3,80%.

Отмечено уменьшение диаметра клетки у перепелов 2, 3 и 5 групп, и увеличение в 4 группе на 6,22% по сравнению с контрольной группой, при этом диаметр ядра в опытных группах был меньше на фоне аналогичного показателя контрольной группы.

Заключение. Различные схемы выпойки карнитин-содержащего комплекса оказали неоднозначное влияние на морфоструктуру печени перепелов. Введение препарата в дозе 0,25 мл/л в течение 5 дней подряд с 10-дневным интервалом с 2-х до 80-суточного возраста снизило размер жировых включений. Доза препарата 0,5 мл/л выпаиваемого в течение 5 дней подряд с 10-дневным интервалом привела к апоптозу и дегенерации отдельных клеток-гепатоцитов. Выпойка препарата в дозе 0,25 мл/л в течение 5 дней подряд с 5-дневным интервалом способствовала образованию большого количества мелких включений в цитоплазме клетки, увеличению диаметра гепатоцита, снижению диаметра ядра и толщины капсулы. Применение препарата в дозе 0,5 мл/л в течение 5 дней подряд с 5-дневным интервалом способствовал скоплению небольшое количество эритроцитов в синусоидных капиллярах.

Проведенное исследование позволяет рекомендовать применение карнитин-содержащего комплекса в дозе 0,25 мл/л в течение 5 дней подряд с 5-дневным интервалом перепелам в течение всего периода выращивания для получения стимуляции продуктивности, получения яиц большой массы и деликатесной печени.

Литература. *1. Глотова, Г. Н. Продуктивные и воспроизводительные качества перепелов // Вклад университетской аграрной науки в инновационное развитие агропромышленного комплекса : материалы 70-й Международной научно-практической конференции, 23 мая 2019 г. – Рязань : Издательство Рязанского ГАУ, 2019. – Часть I. – С. 37-40. 2. Иванов, С. Перепеловодство как альтернатива бройлерам / С. Иванов // Птицепром. – 2015. – № 3 (27). – С. 71-74. 3. Горлов, И. Ф. Качество мяса цыплят-бройлеров при использовании в рационах кормовых добавок / И. Ф. Горлов, И. В. Чепрасова, В. В. Гамага // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2007. – № 5. – С. 83-84. 4. Клетикова, Л. В. Влияние прединкубационной обработки яиц и*

введения в рацион энтеросорбента на метаболизм цыплят / Л. В. Клетикова, М. С. Маннова, Н. Н. Якименко // Международный вестник ветеринарии. – 2021. – № 1. – С. 161-166. 5. Суханова, С. Ф. Влияние кормовой добавки Ветосел е форте на продуктивные и воспроизводительные качества гусынь / С. Ф. Суханова, Г. С. Азаубаева // Вестник Курганской ГСХА. – 2016. – № 3 (19). – С. 64-70. 6. Effects of supplementation of betaine hydrochloride onphysiological performances of broilers exposed tothermal stress / A. Singh, T. Ghosh, D. Creswell, S. Haldar // Open Access Anim. Physiol. – 2015. – Vol. 7. – P. 111-120. 7. Технический регламент Таможенного Союза ТР ТС 021/2011. О безопасности пищевой продукции. - Режим доступа : https://www.novotest.ru/tr-ts/021-2011. – Дата доступа : 03.06.2021. 8. ГОСТ 31931-2012 Мясо птицы. Методы гистологического и микроскопического анализа. - Режим доступа : https://docs.cntd.ru/document/1200103771/titles. – Дата доступа : 03.06.2021. 9. Харитонов, М. В. Активность ферментов мембранного пищеварения перепелов и мускусных уток in vitro : автореф. дис. ... канд. биол. наук / М. В. Харитонов. – Новосибирск, 2004. – 20 с.

УДК 619: 578.7

ПРИМЕНЕНИЕ КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ, БОЛЬНЫХ ДИСПЕПСИЕЙ

Кресан К.М., Волошина И.М.
Киевский национальный университет технологий и дизайна, г. Киев, Украина

Введение. Первичный гепатит (ПГ) является наиболее часто встречающимся заболеванием печени у животных, в том числе и молодых, и его следует отличать от неспецифического реактивного гепатита (НРГ). В отличие от гепатологии человека, диагностика гепатита у молодняка основывается в основном на гистологической морфологии, и термин «гепатит» часто используется независимо от причины. Часто встречающиеся формы ПГ у животных включают острый гепатит (ОГ) и хронический гепатит (ХГ) (с циррозом или без него); реже встречаются дольчатый рассекающий гепатит (ДРГ), гранулематозный гепатит (ГР) и эозинофильный гепатит (ЭГ). Для каждой из этих форм Группа стандартизации печени Всемирной ветеринарной ассоциации мелких животных (WSAVA) опубликовала стандарты диагностики [1].

В различных публикациях и отчетах о случаях заболевания задокументировано большое количество причин гепатопатии в целом, включая микроорганизмы, токсины и лекарства, иммуноопосредованные реакции и метаболические ошибки, связанные с породой [2]. В частности, в последние несколько десятилетий большое внимание уделяется наследственным нарушениям метаболизма меди. Однако, несмотря на большие усилия, большинство случаев гепатита по-прежнему имеют идиопатическое происхождение. Хотя гепатит у животных широко охарактеризован, нет опубликованных данных о возникновении различных форм гепатита, классифицированных по WSAVA. Так же мало исследований, которые освещают особенности диагностики, лечения и профилактики гепатита у животных, особенно у молодняка.

Острый гепатит. Острый гепатит может быть вызван химическими веществами (наиболее известными из них являются органические растворители, такие как CCl_4 и фосфор), лекарствами (включая антибиотики, налидиксовая

кислота), вирусной инфекцией (инфекционный гепатит) и микотоксинами (особенно афлатоксин B1) [3]. При остром гепатите уровень всех ферментов обычно повышен. Лихорадка может, но не всегда, возникать в результате пирогенов из некротизированной ткани и из-за уменьшения удаления эндотоксинов и бактерий из портальной крови. Очень обширный некроз клеток печени называется фульминантным гепатитом. Это приводит к развитию печеночной энцефалопатии, ДВС-синдрома, желтухи и гипогликемии. Эта тяжелая форма быстро прогрессирует до комы и смерти. Острый гепатит характеризуется некрозом печени и сопутствующим воспалением. Некроз обычно представляет собой разжижающий некроз с разрушением сетчатого каркаса. Воспалительный инфильтрат состоит из круглых клеток и нейтрофилов. Существуют также заполненные цероидом макрофаги. Острый гепатит также может быть вызван различными токсинами, такими как токсины грибов, токсины сине-зеленых водорослей или дозозависимая лекарственная токсичность.

Острое заболевание, апатия, иногда лихорадка, анорексия, рвота, обезвоживание, иногда желтуха, в очень тяжелых случаях ДВС-синдром и склонность к кровотечениям. Клиническая картина полностью зависит от тяжести поражения печени и может варьироваться от незначительного до фульминантного летального исхода. Острый гепатит обычно представляет собой заболевание средней тяжести [3].

Хронический гепатит и цирроз. Эти два заболевания обсуждаются вместе, потому что они имеют одинаковый патогенез, а клинические и патологические изменения часто совпадают. Хронический гепатит характеризуется перипортальным фиброзом, инфильтрацией лимфоцитов и плазматических клеток, а также апоптозом или некрозом перипортальных клеток печени. Апоптозные клетки печени становятся меньше и ацидофильными; они известны как ацидофильные тела. Ограничивающая пластинка, представляющая собой слой клеток, отделяющих портальные тракты от паренхимы печени, может быть нарушена при распространении воспалительной реакции из портальных областей в паренхиму. Эта инвазия может распространяться на формирование порто-портального или порто-центрального мостикового фиброза. Если фиброз образует перегородки, соединяющие портальные и центрилобулярные области, нормальная функциональная архитектура долек печени постоянно нарушается: это называется циррозом. Фиброз, особенно в случае цирроза, препятствует нормальному кровотоку в печени, что в первую очередь влияет на портальное кровоснабжение при низком давлении. Портальная кровь необходима для активации местных факторов роста в печени, поэтому снижение портальной перфузии также способствует снижению регенерации печени. В целом, прогрессирующий фиброз переходит в цирроз печени по отрицательному порочному кругу [4]. Хронический гепатит может быть результатом вирусной инфекции. Обычный собачий аденовирус-1 (CAV1) инфекционного гепатита собак является единственным известным вирусом гепатита собак. Инфекция вируса CAV1 у невакцинированных животных вызывает фульминантный гепатит. Вероятно, что существует больше вирусов гепатита, вызывающих хронический гепатит. Хронический гепатит и цирроз также могут быть результатом хронических поражений, вызванных химическими веществами или токсинами (афлатоксином). Хронический гепатит может быть хроническим продолжением острого гепатита, но в большинстве случаев первые симптомы проявляются в хронической стадии. Постепенно

прогрессирующий некроз клеток печени может вызывать продолжающееся повышение уровня всех ферментов печени и желчных кислот. Часто бывает низкий уровень альбумина и фибриногена [2].

Лобулярный рассекающий гепатит. Это диффузный фиброз с перицеллюлярным фиброзом вокруг всех гепатоцитов. Количество фиброзной ткани чрезмерно, поэтому обычно наблюдается тяжелая портальная гипертензия, которая может быстро вызвать асцит, портосистемные приобретенные коллатерали и печеночную энцефалопатию. Прогрессирование обычно происходит намного быстрее, чем обычная форма хронического гепатита; течение этого заболевания занимает недели, а не месяцы. Клиническая картина очень напоминает цирроз печени и врожденную гипоплазию воротной вены. Фактически, правильным термином для этого заболевания является цирроз (нарушение архитектуры долей печени), чем гепатит. Печень слишком мала и имеет гладкую или мелкозернистую поверхность [6]. При обследовании, связанном с заболеваниями печени, основное внимание уделяется слизистым оболочкам и пальпации живота. Аномалии могут включать желтуху, бледность и показания для коагулопатии. Очень бледные слизистые оболочки при наличии желтухи указывают на то, что дисфункция печени является вторичной по отношению к гемолитической анемии [4]. Анализ крови может использоваться для двух целей: во-первых, для обнаружения или исключения (первичной) проблемы с печенью, а во-вторых, для скрининга общего состояния животного. Для дальнейшей диагностики необходимо ультразвуковое сканирование [5]. Лечение специфическое для каждого вида гепатита. В большинстве случаев идиопатической ПГ лечения не требует, но, в зависимости от тяжести рвоты и наличия обезвоживания, показано противорвотное лечение и инфузионная терапия. Может произойти прогрессирование (исходного) ПГ в его хроническую форму, что приведет к повторению клинических признаков. Хронический гепатит лечится как иммуноопосредованное заболевание с пероральным введением преднизона или преднизолона в сочетании с поддерживающей терапией (например, противорвотными, антидиуретическими, жидкостными и диетическими коррективами). Ответ на терапию преднизоном контролируется на регулярной основе с помощью биопсии печени, обычно с 6-недельным интервалом, и терапия продолжается до тех пор, пока гистологически не перестанет наблюдаться гепатоцеллюлярная смерть и воспаление [8].

Помимо иммунодепрессантов, предложенные варианты лечения включают урсодезоксихолевую кислоту (УДХК); антиоксиданты, такие как S-аденозил-L-метионин (SAMe); силимарин; витамин Е; и антифибротический препарат колхицин. УДХК - это синтетическая нетоксичная гидрофильная желчная кислота, обладающая несколькими положительными свойствами. Во-первых, УДХК усиливает отток желчи и, таким образом, стимулирует выведение продуктов воспаления. Во-вторых, УДХК снижает концентрацию эндогенных, более токсичных желчных кислот за счет разбавления. В-третьих, он модулирует иммунную систему, что приводит к снижению иммунного ответа, и, в-четвертых, есть доказательства того, что УДХК обладает антиоксидантными свойствами [9].

SAMe является естественным метаболитом гепатоцитов и предшественником глутатиона. Он важен для защиты от окислительного стресса, и истощения, которое может возникнуть в результате воздействия токсичных веществ у животных с ХГ. Силимарин, по-видимому, действует как сильный поглотитель свободных радикалов за счет увеличения клеточных уровней супероксидисмутазы,

важной для ферментативной защиты от окислительного стресса - он регулирует проницаемость клеточной мембраны и, как было показано, ингибирует синтез лейкотриена и эффекты фактора некроза опухоли альфа. Витамин Е - это пищевой антиоксидант, защищающий от различных путей перекисного окисления мембран [10].

Если есть клинические признаки портальной гипертензии (асцит), назначают лечение спиронолактоном, калийсберегающим диуретиком, лактулозой и можно начать корректировку диеты (высококачественная белковая диета, умеренно ограниченная). Спиронолактон предпочтительнее фуросемида из-за лежащей в основе патофизиологии портальной гипертензии, при которой активируется система реннин-ангиотензин-альдостерон. В случаях тяжелого асцита может оказаться эффективным сочетание спиронолактона и фуросемида. Лактулоза, синтетический дисахарид, ферментированный бактериями толстой кишки в короткоцепочечные жирные кислоты, помогает подкислять среду толстой кишки, улавливая NH_3 (NH_4^1), так что он остается в основном в кале и не попадает в портальную циркуляцию, уменьшая клинические признаки.

Вакцинация является важным фактором профилактики гепатита как у молодняка, так и у всех животных непосредственно. Для осуществления активной иммунопрофилактики используют ассоциированные вакцины против инфекционного гепатита: Дурамун Max5-CVK/4L (Duramune Max5-CVK/4L), Вангард Плюс 5/L (Vanguard Plus 5/L), Вангард Плюс 5/L CV (Vanguard Plus 5/L CV), Нобивак DHPPI (Nobivac DHPPI), Биокан DHPPI (Biocan DHPPI).

Коммерческие поливалентные вакцины, состоящие из токсоидов и / или бактеринов, доступны против клостридиального гепатита типа В и других патогенных клостридий. Гуморальный ответ против токсинов и, возможно, некоторых соматических антигенов приводит к устойчивому иммунитету, хотя могут быть различия в иммуногенности в зависимости от вакцины и вида животных. Вакцины можно вводить в любом возрасте, но обычно рекомендуется проводить первую вакцинацию в 6 месяцев, а затем повторную вакцинацию через 3–4 недели [7]. Однако продолжительность защиты непродолжительна, и в зонах с высокой степенью воздействия следует использовать 2 усилителя в год.

Заключение. Таким образом, проведя анализ последних исследований и литературных источников за 2010-2018 года, можно сделать следующие выводы:

1. Существует несколько видов гепатитов у животных. Нами были рассмотрены такие как: острый гепатит, хронический гепатит, лобулярный рассекающий гепатит. Существует также гепатит вызываемый различными клостридиями, который так и называют клостридиальным.

2. Для диагностики гепатита используют следующие методы: физикальное обследование, УЗИ-обследование, гематологическое обследование.

3. Важным элементом профилактики гепатита является вакцинация, которую важно проводить в возрасте 6 месяцев с последующей ревакцинацией.

Литература. *1. Morphological classification of parenchymal disorders of the canine and feline liver / Van den Ingh TSGAM, T. J. Van Winkle, J. M. Cullen [et al.] // Editors. Standards for clinical and histological diagnosis of canine and feline liver diseases. – Philadelphia : Saunders Elsevier, 2006. – P. 85–101. 2. Watson, P. J. Chronic hepatitis in dogs: a review of current understanding of the aetiology, progression, and treatment / P. J. Watson // Vet. J. – 2004. – Vol. 167. – P. 228–241. 3. Somaye, V. Anatomical and histological study of the liver and*