مجله دانشکده بهداشت و انستیتوتحقیقات بهداشتی
دوره ۱۱، شماره ٤، زمستان ۱۳۹۲، صفحه: ٤٨- ۳۷

ارزیابی توان واکسن خوراکی پولیو نگه‌داری شده در خارج از زنجیره سرد در سامانه کشت سلولی

محمد فرهمند: دانشجوی دوره کارشناسی ارشد، گروه ویروس شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
سید محسن زهرایی: دانشیار ، مرکز مدیریت بیماریها، وزارت بهداشت درمان آموزش پزشکی، تهران، ایران
محمود محمودی: استاد، گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
سوسن محمودی: پزشک، مرکز مدیریت بیماریها، وزارت بهداشت درمان آموزش پزشکی، تهران، ایران
حمیده طباطبایی: استادیار، گروه ویروس شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
زهرا شوکتی اشکیکی: دانشجوی دوره دکتری، گروه پزشکی مولکولی، دانشکده فناوریهای نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
یعقوب ملائی کندلوسی: کارشناس ارشد، گروه ویروس شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
مریم یوسفی: کارشناس ارشد، گروه ویروس شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
رخشنده ناطق: استاد، گروه ویروس شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
شهره شاه محمودی صادقی: استادیار، گروه ویروس شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران- نویسنده رابط:
shahmahmoodi@tums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/٤/۱ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/٦/۲۰**

چکیده

زمینه و هدف: برنامه گسترش ایمن سازی یک راهبرد پذیرفته شده جهانی برای کنترل بیماری‌های دوران کودکی از جمله پولیومیلیت می‌باشد. واکسن خوراکی فلج اطفال که حاوی ویروس زنده ضعیف شده پولیو است به عنوان مناسب‌ترین و راحت ترین ابزار برای واکسیناسیون سراسری به شمار می‌رود. پولیو ویروس به گرما حساس است، از این رو واکسن خوراکی پولیو به حالت انجماد نگه‌داری شده و با کنترل زنجیره سرد به مراکز واکسیناسیون انتقال می یابد. پایداری واکسن در طول انتقال تا زمان مصرف از اهمیت بالایی برخوردار است. برای ارزیابی کیفیت واکسن و پایداری آن از تست ارزیابی توان (Potency) استفاده می‌شود. این مطالعه اولین مدرک قابل استناد از ارزیابی توان واکسن خوراکی پولیو نگه‌داری شده در خارج از زنجیره سرد در ایران می‌باشد.

روش کار: بمنظور مطالعه اثرات دما برحسب درجه سانتیگراد و مدت زمان اثر دما بر حسب روز بر روی توان واکسن پولیو، ویال های واکسن به مدت یک تا هفت روز (یا تا زمان افت قابل توجه توان) در دو دمای ٢٤ درجه سانتیگراد (دمای اتاق) و ۳۷ درجه سانتیگراد (دمای متوسط مناطق گرمسیری) قرار گرفتند. ارزیابی توان برابر روش کار استاندارد سازمان جهانی بهداشت (WHO) انجام شد.

نتایج: نتایج بدست آمده از این مطالعه نشان داد که در صورتی که ویال واکسن به مدت تنها یک روز در دمای ۳۷ درجه قرار گیرد کیفیت خود را از دست می دهد، ولی قرار گرفتن در دمای اتاق در مناطق درجه حرارت به مدت چهار تا پنج روز بر کیفیت سروتایپهای ۱ و ۲ تاثیر چندانی نخواهد گذاشت ولی سروتایپ ۳ از روز دوم کیفیت خود را از دست خواهد داد.

نتیجه گیری: اگر چه ویروس پولیو در قیاس با سایر ویروس ها به شرایط محیطی نسبتا مقاوم می باشد، ولی حساسیت آن به گرما باعث می شود واکسن خوراکی پولیو که حاوی ویروس زنده است با رعایت زنجیره سرد منتقل شود تا تیتر ویروس زنده موجود در واکسن و به طبع آن کارایی واکسن در حین نگهداری کاهش نیابد. نگهداری واکسن در دمای ٤ درجه و پایین تر ارجح است، در غیر این صورت واکسن در دمای اتاق تا حدود پنج روز و در دمای ۳۷ درجه فقط یک روز کارایی لازم را دارد و پس از آن قابل استفاده نیست.

واژگان کلیدی: واکسن خوراکی پولیو، توان، زنجیره سرد.

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-03-24]

مقدمه

فلج اطفال یک بیماری بسیار مسری است که توسط ۳ سروتیپ ویروس وحشی پولیو (تیپ های ۱، ۲ و ۳) ایجاد می شود (Georgescu et al. 1994). ویروس پولیو که در جنس انتروویروس، خانواده پیکورنا ویریده طبقه بندی شده است در فرد مبتلا ایمنی مادام العمر ایجاد می کند هرچند که پاسخ ایمنی به هر یک از سه سروتیپ ویروس پولیو باعث ایجاد ایمنی در دو تیپ دیگر نمی‌شود، به عبارتی پدیده ایمنی متقاطع (Cross immunity) در این ویروس وجود ندارد (Minor 2012). بیماری فلج اطفال اگرچه عمدتا به عنوان یک بیماری دوران کودکی و سنین زیر ۵ سال مطرح است، اما واقعیت این است که هیچ محدودیت سنی خاصی در ابتلاء به این بیماری وجود ندارد و فرد غیرایمن حتی در کهنسالی نیز ممکن است به این بیماری مبتلا شود (Rueckert 1996).

در سال ۱۹۸۸ ، سازمان جهانی بهداشت (WHO) هدف ریشه کنی پولیومیلیت را با ایمونیزاسیون روتین و با استفاده از واکسن خوراکی پولیو (OPV) در دستور کار خود قرار داد (Dowdle et al. 2003). واکسن خوراکی پولیو (OPV)، که حاوی هرسه سروتایپ ویروس پولیو زنده ضعیف شده می‌باشد مناسب ترین واکسنی است که در حال حاضر در برنامه گسترش ایمن سازی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Publication 2010).

با وجود فعالیتهای زیاد در جهت ریشه کنی ویروس پولیو در جهان، اکنون در سال ۲۰۱۳ میلادی ویروس پولیوی وحشی هنوز در ۳ کشور نیجریه، پاکستان و افغانستان بصورت اندمیک در گردش می باشد و چندین کشور نیز به دلیل نقص در واکسیناسیون کودکان، دچار ویروس پولیوی وحشی وارداتی شده اند و اپیدمی پولیومیلیت فلجی در اثر ویروس وحشی وارداتی در این کشورها رخ داده است (Coverage 2013).

در ایران از سال ۲۰۰۱ تاکنون ویروس پولیوی وحشی در نمونه های بیماران فلج شل حاد و نیز محیط (فاضلاب ها) شناسایی نشده است و ایران در حال حاضر یک کشور Polio Free به شمار می رود. همچنین بر اساس گزارش سازمان جهانی بهداشت، جمهوری اسلامی ایران به پوشش حدود صددرصدی واکسن فلج اطفال در تمامی استان ها دست یافته است. در حال حاضر نگرانی اصلی نظام بهداشت و درمان کشور خطر ورود ویروس وحشی از کشورهای همسایه شرقی (که هنوز موفق نشده اند گردش ویروس پولیوی وحشی را متوقف کنند) می-باشد. این امر اهمیت اجرای واکسیناسیون صحیح وگسترده و نظارت دقیق بر کیفیت واکسن های مصرفی را بیش از پیش آشکار می‌سازد. از این رو جهت حفظ کیفیت واکسن توصیه می‌شود که واکسن خوراکی پولیو Oral Polio Vaccine (OPV) در شرایط مناسب با حفظ زنجیره سرد نگهداری شود، که ایده‌آلترین حالت دمای $^{\circ C}$۲۰- می-باشد (Jain et al. 2003). با این حال، در صورت عدم امکان دسترسی به دمای $^{\circ C}$۲۰- می‌توان آن را در دمای ۲- تا ۸- درجه سانتیگراد به مدت حداکثر ٦ ماه نگه‌داری نمود. مطالعات آزمایشگاهی نشان داده‌اند که بین در معرض گرما قرار گرفتن واکسن خوراکی پولیو و پایین آمدن تیتر ویروس زنده ارتباط مستقیم وجود دارد. برای هر سروتایپ ویروس پولیو باید تیتر معینی از ویروس زنده در واکسن وجود داشته باشد تا واکسن دارای توان یا کارا در نظر گرفته شود (Milstien et al. 2006).

حفظ زنجیره سرد حین انتقال واکسن و اجرای عملیات ایمن سازی غالبا مشکل و گاهی اوقات غیر ممکن است، و حتی می‌تواند مهمترین عامل محدودیت رسیدن خدمات ایمن سازی به کل جمعیت باشد (Aggarwal and Singh. 1995; Samant et al. 2007). این مشکل عملا طی روزهای ملی ایمن سازی پر رنگ تر می-شود. هدف از اجرای طرح روزهای ملی ایمن سازی، واکسیناسیون تمام کودکان زیر پنج سال جهت ریشه‌کنی پولیو در کشورهایی است که بیماری در آنها اندمیک است

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-03-24]

و همچنین جلوگیری از بازگشت ویروس پولیو وحشی در کشورهایی که احتمال بازگشت ویروس وحشی به آنها وجود دارد (Organization 2010). مناسب ترین حالت ممکن در زمان اجرای عملیات واکسیناسیون، کافی بودن تجهیزاتی از جمله جعبه های حاوی بسته‌های یخ است که فرد واکسیناتور جهت حمل ویال های واکسن از آن استفاده می‌کند. این حالت معمولا به علت حجم گسترده واکسیناسیون کمتر اتفاق می‌افتد و عملا موجب خارج شدن ویال واکسن از زنجیره سرد خواهد شد. دمایی که ویال واکسن در معرض آن قرار گرفته و نیز مدت زمان آن در تیتر ویروس زنده موجود در واکسن و در نتیجه کارایی واکسن موثر است .(Zipursky et al. 2011).

در این مطالعه هدف اصلی بررسی پایداری حرارتی واکسن خوراکی فلج اطفال مورد استفاده در ایران از طریق تعیین تیتر هر سه سروتیپ ویروس پولیوی موجود در واکسن مصرفی در کشور بوده است. اطمینان از کیفیت مناسب واکسن پولیوی مصرفی در کشوری که پوشش واکسیناسیون آن نزدیک به صددرصد است، همزمان با کنترل سطح ایمنی کودکان در استان های پرخطر کشور مهر تاییدی خواهد بود برای اینکه کشور ما در آینده نیز عاری از فلج اطفال باقی بماند.

روش کار

به منظور مطالعه اثرات دما بر حسب درجه سانتیگراد و همچنین زمان اثر آن بر حسب روز ، ۷۰ نمونه ویال واکسن خوراکی پولیو از سردخانه وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی به صورت تصادفی انتخاب شد و با رعایت زنجیره سرد به آزمایشگاه مرکز ملی فلج اطفال واقع در گروه ویروس شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران انتقال یافت. مشخصات هر ویال واکسن شامل تاریخ انقضا، شماره تولید و کیفیت برچسب Vaccine Vial Monitor (VVM) روی واکسن، در دفتر ثبت شد. نتیجه تست مربوط به هر ویال واکسن نیز در صفحه مربوط به همان واکسن ثبت گردید. برای انجام این آزمایش از دستورالعمل سازمان جهانی بهداشت استفاده شد (Organization 1995).

جهت انجام آزمایش نمونه‌های واکسن به دو گروه تقسیم شدند. گروه اول در دمای $۲٤^{°C}$ (به عنوان میانگین دمای اتاق در مناطق درجه حرارت)، و گروه دوم نیز در دمای $۳۷^{°C}$ (به عنوان میانگین دمای هوا در مناطق گرمسیر) قرار گرفتند و در هر گروه کاهش توان به صورت دوره ای در فواصل زمانی ۲٤ ساعته تا هنگامی که نمونه‌ها حداقل توان توصیه شده توسط WHO را داشتند، مورد بررسی قرار گرفتند به طوری که در هر ۲٤ ساعت ۵ ویال از هر گروه آزمایش شد.

برای هر نمونه واکسن OPV تعداد ۳ پلیت علامت گذاری شد و هر آزمایش سه بار تکرار گردید. پلیت شماره یک برای تعیین تیتر سروتیپ‌های پولیو۱ و پولیو۲، پلیت شماره دو برای تعیین تیتر سروتیپ پولیو۳ و تست Antibody escape control، و در نهایت پلیت شماره سه برای تعیین تیتر توتال واکسن و همچنین تیتر ویروس رفرانس (که تیتر آن از قبل مشخص است و به عنوان کنترل صحت آزمایش انجام می‌گیرد)، بکار برده شد. از آنجا که واکسن مصرفی دارای هر سه سروتایپ ویروس پولیو است، برای تیتراسیون هر سروتایپ باید دو سروتایپ دیگر توسط آنتی بادی اختصاصی از محیط حذف گردد.

رقت‌های ویروس واکسن به فواصل نیم لگاریتمی مطابق شکل ۱ تهیه شد.

همچنین رقت‌هایی از ویروس رفرانس نیز به فواصله لگاریتم یک تهیه شد (شکل ۲).

به این منظور جا لوله‌ای حاوی لوله ها داخل سینی حاوی آب یخ قرار داده می‌شود. پس از افزودن ویروس به هر لوله آنرا به شدت ورتکس کرده و سپس رقت بعدی تهیه می‌شود.

۵۰ میکرولیتر از محیط نگه‌دارنده حاوی ۵٪ FBS به تمام چاهک‌های پلیت ۳ اضافه شد. (به جای آنتی سرم)

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-03-24]

۵۰ میکرولیتر از مخلوط آنتی‌سرمی شماره ۱ به چاهک‌های ستون ۱ تا ۵ پلیت شماره ۱ اضافه شد.
۵۰ میکرولیتر از مخلوط آنتی‌سرمی شماره ۲ به تمام چاهک‌های ستون ٦ تا ۱۰پلیت شماره ۱ اضافه شد.
۵۰ میکرولیتر از مخلوط آنتی‌سرمی شماره ۳ به تمام چاهک‌های ستون ۱ تا ۵ پلیت شماره ۲ اضافه شد.

رقت‌های مختلف واکسن نمونه بوسیله یک پیپت استریل از رقت بالا به پایین از داخل لوله به داخل پلیت ۹٦ خانه به قرار زیر منتقل شد:
برای سنجش تیتر پولیو۱ از رقت 10^{-6} تا 10^{-8}
برای سنجش تیتر پولیو۲ از رقت $10^{-4.5}$ تا $10^{-6.5}$
برای سنجش تیتر پولیو۳ از رقت $10^{-4.5}$ تا $10^{-6.5}$
برای سنجش تیتر پولیو توتال از رقت 10^{-6} تا 10^{-8}
برای کنترل Antybody escape از 10^{-4} تا 10^{-8}
همین عمل با رقت‌های مختلف واکسن استاندارد انجام شد یعنی:

رقت‌های مختلف واکسن استاندارد از 10^{-4} تا 10^{-8} بوسیله یک پیپت استریل از رقت بالا به پایین از داخل لوله به داخل پلیت ۹٦ خانه منتقل شد.

۵۰ میکرولیتر از محیط نگه‌دارنده حاوی ۵٪ FBSبه ستون‌های ۱۱ و ۱۲ در تمام پلیت‌ها اضافه شد.(به جای واکسن)

پلیت‌ها به مدت ۳ ساعت در دمای $37^{\circ}C$ انکوبه شدند تا آنتی‌سرم‌ها ویروس های مربوطه را خنثی کنند و دو سروتایپی که مورد نظر نیستند از محیط عمل حذف گردند.

در این فاصله ۳ فلاسک ۲۵ میلی لیتری کشت سلول L20B تریپسینه شد، سلول‌ها شمارش شدند و سوسپانسیونی به غلظت ۱۰۰۰۰۰سلول در میلی لیتر محیط حاوی ۵٪ سرم تهیه گردید.(برای هر ۳ پلیت حدود ۳۰ میلی لیتر سوسپانسیون لازم است).

پس از انکوباسیون ۳ ساعته به تمام چاهک های تمام پلیت‌ها هر یک ۱۰۰ میکرولیتر از این سوسپانسیون سلولی اضافه شد. افزودن سلول‌ها کاملا عمودی انجام شد و از آن پس دقت شد که پلیت کج نشده یا روی سطوح شیب دار قرار نگیرد تا از تجمع سلول‌ها در یک طرف و خالی ماندن طرف دیگر چاهک جلوگیری شود.

پلیت‌ها به مدت ۵ روز در انکوباتور $36^{\circ}C$ نگه‌داری شدند، اما از همان روز اول هر روز وضعیت سلول‌ها بررسی می‌شد. بخصوص در روزهای اول سلول‌های کنترل باید بررسی شوند زیرا در صورت توکسیک بودن آنتی‌سرم برای سلول این پدیده ظرف ۲ روز اول مشخص خواهد شد.

نتایج بررسی وجود مرگ سلولی یا Cyto pathic Effect (CPE) بویژه از روز سوم به بعد یادداشت می‌شد. پس از پایان دوره انکوباسیون پلیت‌ها بصورت میکروسکوپی بررسی گردید و نتایج بر اساس فرمول Karberقرائت و ثبت شدند.

بر اساس فرمول Karber تعداد پارتیکل های ویروسی در حجم تلقیح شده واکسن به محیط کشت که ۵۰ میکرولیتر می باشد به صورت لگاریتم CCID50 می‌باشد و برابر است با:

$$\text{Log CCID50} = -Xm + d/2 - d(S/100)$$

که در آن:

Xm = لگاریتم بالاترین رقت مثبت

d = لگاریتم عامل رقت

S = مجموع درصد اثر سایتوپاتیک در هر رقت

CCID50 = دوز عفونی کشت سلولی برای ۵۰٪ از سلولها

نتایج

جهت اطمینان از روایی آزمایش همیشه باید به همراه واکسن نمونه، از استاندارد کاری استفاده شود که این نمونه استاندارد از سوی سازمان جهانی بهداشت در اختیار آزمایشگاه های مرجع قرار می گیرد. در صورتی که تیتر استاندارد بین المللی در مرحله کالیبراسیون با تیتر واقعی آن تفاوت داشته باشد این اختلاف باید به عنوان عامل تصحیح در مورد نتایج تست ها اعمال شود. این عامل تصحیح

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-03-24]

نباید بیش از نیم log باشد. همچنین تیتر استاندارد کاری در هر نوبت آزمایش نباید با تیتر از پیش تعیین شده آن بیش از نیم log اختلاف داشته باشد.

میزان توان توصیه شده برای هر سروتیپ بر حسب لگاریتم CCID50 عبارت است از:

- 10^{6} برای تیپ ۱
- 10^{5} برای تیپ ۲
- $10^{5.8}$ برای تیپ ۳

در صورت معتبر بودن کل آزمایش طبق معیارهای فوق، اگر توان واکسن مورد آزمایش غیر قابل قبول باشد باید تست را برای سروتیپی که جواب غیر قابل قبول داده تکرار کرد و میانگین هر دوبار آزمایش را محاسبه نمود. اگر این میانگین داخل محدوده قابل قبول باشد واکسن قابل مصرف است، در غیر این صورت مردود می‌شود.

نتایج به صورت دوز CCID50 ثبت و با استفاده از فرمول karber محاسبه شدند.

میانگین نتایج حاصل از بررسی سروتایپ های مختلف ویروس پولیو موجود در نمونه های واکسن در روزها و دما های مختلف، بر اساس لگاریتم CCID50 در جداول شماره ۱و ۲ به تفکیک ارائه شده است.

آزمایشات تا زمانی که سروتایپ‌های مورد بررسی در هر گروه همچنان توان قابل قبول از نظر WHO را داشتند، ادامه یافت تا طولانی ترین زمان ممکن برای قرار گرفتن ویال واکسن در آن دمای خاص بدست آید.

با توجه به استاندارد تعیین شده از سوی WHO برای توان واکسن پولیو ، تمامی نمونه‌های کنترل که در $-20^{\circ}C$ نگه‌داری شده بودند از نظر هر سه سروتایپ ویروس پولیو پوتنت بودند.

همانطور که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود، واکسن‌هایی که در دمای $24^{\circ}C$ نگهداری شدند، از نظر سروتایپ پولیو۱ توان واکسن‌ها از روز اول شروع به کاهش کرد اما تا روز پنجم حداقل توان لازم را حفظ کردند، اما از روز ششم توان واکسن به کمتر از ۶ بر حسب لگاریتم CCID50 رسید که نشان داد از روز ششم واکسن قابل استفاده نیست.

در مورد سروتایپ پولیو ۲ نمونه ها در دمای $24^{\circ}C$ همانند پولیو ۱ توان واکسن‌ها از همان روز اول شروع به کاهش کرد اما تا روز چهارم توان مورد نیاز را حفظ کردند ولی پس از آن در روز پنجم توان واکسن به کمتر از ۵ بر حسب لگاریتم CCID50 رسید که کمتر از میزان توصیه شده از سوی WHO بود.

از نظر پولیو ۳ نیز توان واکسن‌های نگهداری شده در دمای $24^{\circ}C$ در روز دوم به کمتر از ۵/۸ بر حسب لگاریتم CCID50 رسیدند و توان لازم وجود نداشت.

جدول ۲ نتایج مربوط به نمونه‌های نگهداری شده در دمای $37^{\circ}C$ را نشان می‌دهد.

همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود واکسن-هایی که در معرض دمای $37^{\circ}C$ قرار گرفته بودند در ۲۴ ساعت اول افت توان شدیدی را نشان دادند اما کماکان حداقل توان لازم را از نظر پولیو ۱ و پولیو ۲ داشتند، درحالی که در روز دوم توان آنها به زیر میزان استاندارد رسید.

از نظر پولیو ۳ نیز در دمای $37^{\circ}C$توان واکسن در روز اول به کمتر از میزان استاندارد رسید.

بحث

واکسن زنده ضعیف شده پولیو که بصورت قطره خوراکی است شامل ترکیبی از هرسه سروتیپ پولیو ویروس زنده ضعیف شده می باشد و توانایی تحریک سامانه ایمنی فرد دریافت کننده واکسن را دارد. یکی از خصوصیات این واکسن حذف توانایی ورود ویروس به سامانه اعصاب مرکزی می‌باشد (Fox 1984). معمولا برای ایجاد ایمنی مناسب سه دوز یا بیشتر واکسیناسیون مورد نیاز است. از دیگر خصوصیات این واکسن ایجاد ایمنی مخاطی و ایمنی هومورال است که باعث موثر تر شدن کارایی واکسن می‌گردد (Sutter and Patriarca 1993). باتوجه به دفع ویروس از راه مدفوع، احتمال انتقال

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-03-24]

فرد به فرد وجود دارد که نهایتا در جامعه باعث ایجاد ایمنی گروهی بهتر می‌گردد (Patriarca et al. 1991).

از آنجا که واکسن خوراکی پولیو حاوی ویروس زنده ضعیف شده است و این ویروس نسبت به گرما حساس است، در صورتی که واکسن در شرایط نامناسب حرارتی نگهداری شود تیتر ویروس موجود در آن پایین آمده و اثربخشی واکسن کاهش خواهد یافت. از این رو واکسیناسیون به تنهایی کافی نیست و باید کنترل پایداری حرارتی واکسن خوراکی پولیوی مورد استفاده در جامعه از طریق تعیین تیتر هر سه سروتیپ ویروس پولیوی موجود در واکسن انجام شود.

بهترین روش برای سنجش پایداری حرارتی واکسن زنده پولیو استفاده از تست توان می باشد (Elisberg 1984). به عبارت دیگر استفاده از آزمایش کنترل توان وسیله ای سودمند برای ارزیابی قدرت واکسن و همچنین کنترل پایداری حرارتی واکسن پس از تولید و نیز در حین انتقال تا زمان مصرف می‌باشد.

با توجه به نکات ذکر شده و اهمیت بالای موضوع، تست بررسی توان واکسن خوراکی پولیو در بسیاری از کشورهایی که هنوز از واکسن خوراکی پولیو استفاده می-کنند انجام گرفته است. از آنجا که تا کنون در کشور ما چنین بررسی صورت نگرفته بود، انجام این مطالعه با عنوان "ارزیابی توان واکسن خوراکی پولیو نگه‌داری شده در خارج از زنجیره سرد در سامانه کشت سلولی" لازم و مفید به نظر می‌رسید.

استفاده از تست کنترل توانایی ایمنی زایی یا Potency ابزار بسیار ارزشمندی برای بررسی کیفیت انواع واکسنهای تولیدی است. این آزمون می تواند در پیش بینی عدم موفقیت واکسن ها در ایجاد ایمنی مفید باشد. تعیین توان برای واکسنهای مختلفی انجام شده و بر حسب نوع واکسن (غیرفعال، زنده ضعیف شده، واکسن ساب یونیت، واکسن نوترکیب و غیره) نحوه اندازه گیری توان متفاوت است (Horiuchi et al. 2011). بطور مثال برای بررسی توان تمام واکسن های ویروس آنفلوانزای انسانی از تست Single-radial-immunodiffusion (SRID) استفاده می‌شود.

Williamsدر مطالعه ای که در سال ۱۹۹۳ انجام داد به این نتیجه رسیده است که SRID از سایر روش های قبلی که به این منظور به کار گرفته شده مناسب تر است (Williams 1993).

در کشور مالزی Saraswathy و همکاران مطالعه‌ای را بر روی توان واکسن خوراکی پولیو و همچنین توان واکسن زنده ضعیف شده سرخک انجام دادند. از هنگام شروع این تست در سال ۱۹۸۱ تا زمان چاپ این مقاله(۱۹۹۳) در مجموع تعداد ۷۵۲ تست در مراکز واکسیناسیون این کشور انجام شده است. از تعداد ۱۶۵ عدد واکسنی که بعد از بر هم خوردن زنجیره سرد به عنوان نمونه برای تعیین توان به آزمایشگاه ارسال شده بود، تعداد ۱۵٤ عدد(۸۷٪) حد اقل توان لازم را برای ایجاد ایمنی در اطفال داشتند (Saraswathy et al. 1993).

در مورد واکسن پولیو سنجش توان واکسن در کشور های مختلف و در مقاطع مختلف زمانی انجام شده است و در برخی از آنها میزان کاهش توان را به نگهداری واکسن در شرایط محیطی نامناسب ربط داده اند:

در کشور نیجریه در سال ۲۰۱۰ Okwor و همکاران مطالعه ای بر روی توان واکسن پولیو خوراکی مصرفی انجام دادند. به همین منظور سی و شش نمونه واکسن را از سه بسته (Batch) مختلف که هر کدام از این بسته ها نماینده مراکز واکسیناسیون مختلفی در نیجریه بودند انتخاب کردند. واکسن ها بوسیله سلول های L20B مورد آزمایش قرار گرفتند و در نهایت بررسی نتایج نشان دهنده این بود که تمام ۳٦ نمونه واکسن با حد اکثر تیتر $\log_{10}$ (8.38) و حد اقل تیتر $\log_{10}$ (7.58) قابل قبول بودند (Okwor 2010).

در کشور چاد در سال ۲۰۱۱ Zipursky و همکاران مطالعه ای را بر روی میزان توان واکسن پولیو مونووالان تیپ ۳ که طی انجام برنامه ایمونیزاسیون در معرض دمای

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-03-24]

محیطی قرار داشت انجام دادند. طی این آزمایش ویال های مورد آزمایش در معرض حرارتی تا میزان $47.1^{\circ}C$ و همچنین به مدت حداکثر ۸۶/۹ ساعت خارج از محدوده-ی دمایی $^{\circ}C$ ۸-۲ بودند. بررسی تست های آزمایشگاهی بیانگر این مطلب بود که ویال های مورد آزمایش همچنان توان قابل قبول را دارا هستند. نتایج مطالعه تأیید کننده این پیش فرض بود که سروتایپ های خاصی از واکسن پولیوی خوراکی می توانند توان خود را برای مدت محدودی در محیط حفظ کنند (Zipursky et al. 2011). نتیجه مطالعه ذکر شده با مطالعه حاضر همخوانی ندارد از این نظر که ویال های واکسن مورد آزمایش ما پس از قرار گرفتن به مدت فقط ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه توان لازم را از دست دادند.

در کشور نیجریه در سال ۱۹۹۶ Acu و همکاران مطالعه ای را بر روی کیفیت نگهداری واکسن ها در انبار های سرد و تعیین توان آنها در ایالت های Osan. Oyo. Lagos ترتیب دادند. تجهیزات مراکز نگهداری واکسن مورد برسی و واکسن های پولیوی خوراکی، سرخک و تب زرد تحت تست تعیین توان قرار گرفتند. تمام ۲۷ مرکز مورد مطالعه از نظر کارکنان مجرب و تجهیزات در مراکز ملی و در سطح ایالتی مورد تأیید قرار گرفتند، هرچند که شرایط نگهداری واکسن ها در سطوح پایین تر و مراکز واکسیناسیون نامطلوب به نظر می رسید. نتایج تست های سنجش توان نشان می داد که کاهش تیتر در واکسن پولیوی خوراکی و واکسن تب زرد کمتر از واکسن سرخک بوده است (Acu et al. 1996).

به نظر می رسد عوامل مختلفی بر اثربخشی واکسن پولیو مؤثرند. در یک مطالعه درآفریقای جنوبی که بر روی اثر بخشی چند واکسن انجام شد محققین مشاهده کردند که ۳۹ درصد کودکانی که سه دوز واکسن خوراکی پولیو دریافت کرده بودند بر علیه هیچکدام از سه تیپ ویروس آنتی‌بادی نداشتند. به نظر محققین این مطالعه مهمترین مشکل به زنجیره سرد نگهداری واکسن مربوط بوده است (De Swardt et al. 1990).

در کشور فرانسه در سال ۲۰۰۲ Buchheit و همکاران همسو با تصمیم اتحادیه اروپا مبنی بر کنترل کیفی داروها، به بررسی و مقایسه توان واکسن پولیوی خوراکی با استاندارد بین المللی برای این واکسن پرداختند. تعداد ۱۶ آزمایشگاه در این مطالعه شرکت کردند. نتایج بدست آمده حاکی از مناسب بودن توان نمونه های مورد آزمایش بود (Buchheit et al. 2002).

همانگونه که قبلا ذکر شد سازمان جهانی بهداشت برای هر یک از سه سروتایپ ویروس پولیوی موجود در واکسن مقادیر مجاز را به صورت لگاریتم CCID50 بعنوان استاندارد اعلام کرده است. مقایسه حاصل از نتایج مطالعه‌ی حاضر با سایر مطالعات ذکر شده در بالا نشان می-دهد که در شرایط عدم امکان دسترسی به تجهیزات برای حفظ زنجیره سرد واکسن، در مناطق نسبتا گرم حداکثر تا ۲۴ ساعت می‌توان به توان واکسن اعتماد کرد و پس از آن احتمال اینکه واکسن کارایی قابل قبولی داشته باشد کاهش خواهد یافت. این زمان در مناطق درجه حرارت از یک تا پنج روز برای سروتایپ‌های مختلف متغیر است.

نکته لازم به ذکر این است که اگرچه کنترل پایداری حرارتی توسط تست ارزیابی توان روشی موثر در کنترل کیفی واکسنهای مورد استفاده می‌باشد ولی با توجه به پیچیدگی پاتوژن ها و پاسخ سامانه ایمنی میزبان به آنها نمی توان نحوه پاسخگویی سیستم ایمنی افراد واکسینه را به تنهایی با آزمایش کنترل توان پیش بینی کرد. بنابراین ممکن است واکسنی که با تست ارزیابی توان تیتر ویروس ناکافی را نشان می‌دهد بتواند سیستم ایمنی فرد واکسینه را به اندازه کافی تحریک کند و پاسخ آنتی بادی مناسب بر علیه ویروس ایجاد گردد. بنابراین، تایید شدن واکسن در آزمایش کنترل توان حرارتی نمی‌تواند به خوبی کارایی واکسن را نشان دهد و در مقابل نیز رد شدن واکسن در آزمایش کنترل توان، ملاکی قطعی برای پیش بینی عدم کارایی آن نیست. از این رو برای ارزیابی ایمنی جامعه برعلیه ویروس پولیو علاوه بر کنترل کیفی واکسنهای تولیدی با تست ارزیابی توان، باید به طور مرتب سطح آنتی بادی برعلیه ویروس

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-03-24]

پولیو در جامعه سنجیده شود تا از ایمنی بالای افراد، بخصوص کودکان، برعلیه ویروس پولیو اطمینان حاصل گردد.

نتیجه گیری

از آنجا که ویروس پولیو نسبت به دمای بالا حساس می باشد، حفظ زنجیره سرد برای حفظ کیفیت و کارایی واکسن بسیار ضروری است. برای اطمینان از حفظ ارزیابی توان در تمام مراحل نگهداری واکسن در سطوح محیطی، با توجه به مستندات بین المللی و توصیه های اکید سازمان جهانی بهداشت در مورد ضرورت نگهداری واکسن پولیو در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد تا زمان مصرف، حفظ زنجیره سرد از زمان تولید تا زمان مصرف واکسن پولیو از اهمیت بالایی برخوردار است.

نتایج این مطالعه که برای اولین بار در ایران انجام گرفت و پایداری حرارتی واکسن های پولیوی تولیدی در ایران را مورد آزمایش قرار داد نشان داد که در صورتی که ویال واکسن به مدت تنها یک روز در دمای ^{o}C ۳۷ قرار گیرد کیفیت خود را از دست می دهد، ولی قرار گرفتن واکسن در دمای اتاق در مناطق با آب و هوای معتدل، به مدت چهار تا پنج روز بر کیفیت سروتایپهای ۱ و ۲ تاثیر چندانی نخواهد گذاشت ولی سروتایپ ۳ از روز دوم کیفیت خود را از دست خواهد داد. از آنجا که سروتایپ ۳ ویروس پولیوی وحشی هنوز یکی از تایپهای در حال گردش در کشورهای همسایه شرقی ماست، بهتر است ویال های واکسن تا زمان مصرف در سرما نگهداری شوند تا از کیفیت و کارایی واکسنهای مورد استفاده مطمئن باشیم. همچنین لازم است یافته های این مطالعه توسط آزمایشگاه های رفرانس سازمان کنترل غذا و دارو در وزارت بهداشت مورد بررسی بیشتر قرار گیرند.

تشکر و قدردانی

مجریان این طرح از مرکز مدیریت بیماریها ، وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی جهت پشتیبانی مالی کمال تشکر را دارند. این مقاله نتیجه فسمتی از طرح شماره ۹۱-۰۱-۱۵۹-۱۷۸۷۵ می باشد. مراحل عملی آن در آزمایشگاه کشوری تشخیص فلج اطفال ایران ، گروه ویروس شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گرفته است.

جدول ۱- تیتر سروتایپ های مختلف واکسن پولیو تولیدی ایران بر حسب لگاریتم CCID50

درجه حرارت بر حسب سانتیگراد	روز	پولیو ۱بر حسب لگاریتم**CCID50***	پولیو۲ بر حسب لگاریتم CCID50	پولیو ۳ بر حسب لگاریتم CCID50
-۲۰	۰	٦/۷۹	٥/۳۳	٥/۹۳
۲٤	اول	٦/۷۱	٥/۳۱	٥/۱۹
۲٤	دوم	٦/٦۸	٥/۲۷	–
۲٤	سوم	٦/٦۱	٥/۲۲	-
۲٤	چهارم	٦/٤۷	٥/۱۰	-
۲٤	پنجم	٦/۲۰	٤/۸۱	-
۲٤	ششم	٥/۸۹	-	-
۲٤	هفتم	-	-	-

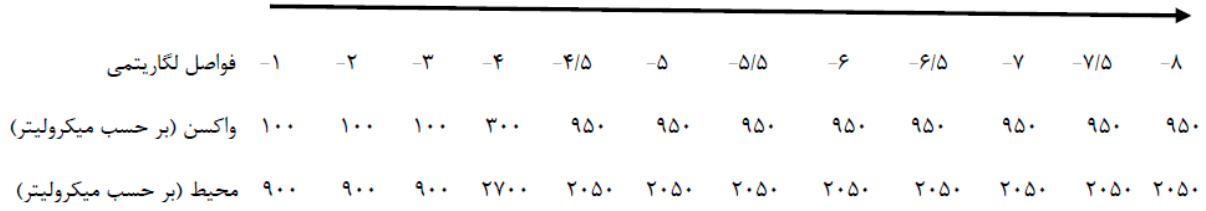
*هر یک از اعداد ارائه شده در جدول، میانگین توان پنج ویال واکسن برای هر حالت می‌باشد.

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-03-24]

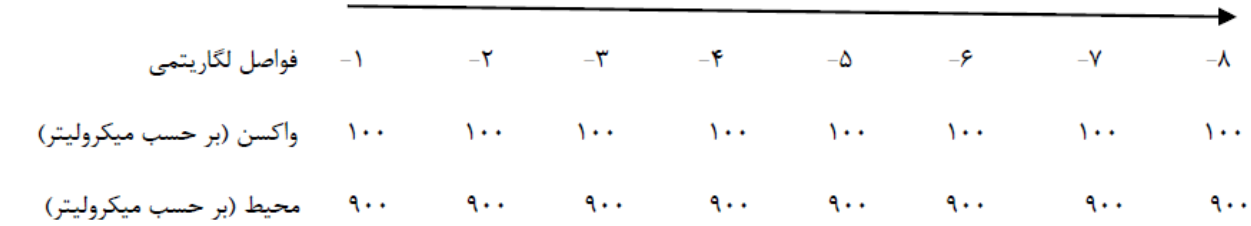
جدول ۲- تیتر سروتایپ های مختلف واکسن پولیو تولیدی ایران بر حسب لگاریتم CCID50

درجه حرارت بر حسب سانتیگراد	روز	پولیو ۱بر حسب لگاریتم**CCID50** *	پولیو۲ بر حسب لگاریتم **CCID50**	پولیو ۳ بر حسب لگاریتم **CCID50**
-۲۰	۰	۶/۸۱	۵/۴۱	۵/۹۰
۳۷	اول	۶/۳۴	۵/۱۰	۴/۸۱
۳۷	دوم	۵/۶۷	۴/۸۰	
۳۷	سوم	-	-	-

*هر یک از اعداد ارائه شده در جدول، میانگین توان پنج ویال واکسن برای هر حالت می‌باشد.



شکل ۱- تهیه رقت به فواصل نیم لگاریتمی از نمونه واکسن پولیو تولیدی ایران



شکل ۲- تهیه رقت‌های مختلف ویروس رفرانس

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-03-24]

References

Acu, F., Adedeji, A., Esan, J. and Odusanya, O., 1996. Live viral vaccine potency: an index for assessing the cold chain system. *Public health,* 110**,** pp. 325-330.

Aggarwal, A. and singh, A.J., 1995. Evaluation of cold chain system in rural areas of Haryana. *Indian pediatrics,* 32**,** pp. 31-31.

Buchheit, k., daas, A. and stalder, J., 2002. Collaborative study for the establishment of the Ph. Eur. BRP for oral poliomyelitis vaccine (OPV) Batch 3 for use in the potency assay. *Pharmeuropa. Special issue biologicals,* P. 67.

Coverage, R.V., 2013. Progress toward eradication of polio - worldwide, january 2011-march 2013. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep,* 62**,** pp. 335-338.

De Swardt, R., Ijsselmuiden, C. and johnson, S., 1990. Vaccination status and seroprevalence of measles and polio antibodies in 1-6-year-old children in the Elim health ward of Gazankulu. *South African medical journal Suid-Afrikaanse tydskrif vir geneeskunde,* 78**,** P. 726.

Dowdle, W.R., De Gourville, E., Kew, O.M., Pallansch, m. A. and Wood, d.J., 2003. Polio eradication: the OPV paradox. *Reviews in medical virology,* 13**,** pp. 277-291.

Elisberg, b.L., 1984. Standardization of safety and potency tests of vaccines against poliomyelitis. *Review of Infectious Diseases,* 6**,** pp. S519-S522.

Fox, j.P., 1984. Modes of action of poliovirus vaccines and relation to resulting immunity. *Review of Infectious Diseases,* 6**,** pp. S352-S355.

Georgescu, M.M., Delpeyroux, F., Tardy-Panit, M., Balanant, J., Combiescu, M., Aombiescu, A., Guillot, S. and Crainic, R., 1994. High diversity of poliovirus strains isolated from the central nervous system from patients with vaccine-associated paralytic poliomyelitis. *Journal of virology,* 68**,** pp. 8089-8101.

Horiuchi, Y., Ochiai, M., Kataoka, M., Yamamoto, A., Yuen, C.T., Asokanathan, C., Corbel, M., Kurata, T. and Xing, D., 2011. Strategic approaches for developing alternative tests for safety and potency of vaccines. *Procedia in Vaccinology,* 5**,** pp. 156-163.

Jain, R., Sahu, A., Tewari, S., Malik, N., Singh, S., Khare, S. and Bhatia, R., 2003. Cold chain monitoring of OPV at transit levels in India: correlation of VVM and potency status. *Biologicals,* 31**,** pp. 237-244.

Milstien, J.B., Galazka, A.M., Kartoglu, U.M. and Zaffran, M., 2006. Temperature sensitivity of vaccines. *WHO Document Production Services,* pp. 1-73.

Minor, P.D., 2012. The polio-eradication programme and issues of the end game. *J Gen Virol,* 93**,** pp. 457-474.

Okwor, M.G., 2010. Potency Titration of Oral Polio Vaccine by Estimation of Live Virus Content Using Tissue Culture Technique. *Journal of Applied Sciences Research,* 6**,** pp. 229-233.

Organization, WHO., 1995. Manual of laboratory methods for potency testing of vaccines used in the WHO Expanded Programme on Immunization. WHO publication no. WHO/BLG/95.1. World Health Organization, Geneva, Switzerland.

Organization, WHO., 2010. Global Polio Eradication Initiative: strategic plan 2010–2012. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2010.

Patriarca, P.A., Wright, P.F. and John, T.J., 1991. Factors affecting the immunogenicity of oral poliovirus vaccine in developing countries: review. *Review of Infectious Diseases,* 13**,** pp. 926-939.

Publication WHO., 2010. Polio vaccines and polio immunization in the pre-eradication era: WHO position paper-recommendations. *Vaccine,* 28**,** pp. 6943-6944.

Rueckert, R., 1996. Picornaviridae: the viruses and their replication. *Fields virology,* 1**,** pp. 609-654.

Samant, Y., Lanjewar, H., Parker, D., Block, L., Tomar, GS. and Stein, B., 2007.

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-03-24]

Evaluation of the cold-chain for oral polio vaccine in a rural district of India. *Public health reports*, 122**,** P. 112.

Saraswathy, T., Sinniah, M., Lee, W. and Lee, P., 1993. The value of potency testing of poliomyelitis and measles vaccines as an integral part of cold chain surveillance. *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*, 24**,** P. 265.

Sutter, R. and Patriarca, P., 1993. Inactivated and live, attenuated poliovirus vaccines: mucosal immunity. *Measles and Poliomyelitis.* Springer. pp. 279-294.

Williams, M., 1993. Single-radial-immunodiffusion as an in vitro potency assay for human inactivated viral vaccines. *Veterinary microbiology*, 37**,** pp. 253-262.

Zipursky, S., Boualam, L., Cheikh, D.O., Fournier-Caruana, J., Hamid, D., Janssen, M., Kartoglu, U., Waeterloos, G. and Ronveaux, O., 2011. Assessing the potency of oral polio vaccine kept outside of the cold chain during a national immunization campaign in Chad. *Vaccine*, 29**,** pp. 5652-5656.

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-03-24]

Assessmnent of Potency of Oral Polio Vaccine Maintained Outside the Cold Chain in Cell Culture System

Farahmand, M., **MSc.** Student, Department of Virology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Zahraei, M., Ph.D. Associate Professor, Center for Disease Control and Management, Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran
Mahmoodi, M., Ph.D. Professor, Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Mahmoody, S., MD. Pediatrician, Center for Disease Control and Management, Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran
Tabatabaie, H., Ph.D. Assistant Professor, Department of Virology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Shokati, Z., **Ph.D.** Student, Department of Molecular Medicine, School of Advanced Technologies in Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Mollaie Kandalousi, Y., MSc. Department of Virology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Yousefi, M., MSc. Department of Virology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Nategh R., Ph.D. Department of Virology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Shahmahmoodi, Sh., Ph.D. Assistant Professor, Department of Virology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran- Corresponding author: shahmahmoodi@tums.ac.ir

Received: Jun 22, 2013 **Accepted: Sep 11, 2013**

ABSTRACT

Background and Aim: Expanded program on immunization is one of the strategic universally accepted methods for control of childhood diseases including poliomyelitis. Oral Polio Vaccine (OPV) which consists of live attenuated poliovirus is considered as appropriate and most convenient tool for nation-wide vaccination. Polio virus is sensitive to heat, so OPV should be kept frozen and transferred to vaccination centers under cold chain conditions. Thermo-stability of vaccine during transportation is very important. Potency test is used to evaluate the quality and stability of vaccine. This is the first documentated study on evaluation of OPV potency kept out of cold chain conditions in Iran.
Materials and Methods: To study the effects of time and temperature on potency of polio vaccine, vaccine vials were exposed to 24°C (room temperature) and 37°C (average temperature in tropical regions) for one to seven days. Vaccine potency evaluation was performed according to World Health Organization protocol.
Results: It can be inferred from comparison of the results of this study with the international standards that OPV is stable at 37◦C for only one day, but if it is exposed to room temperature for 4-5 days, serotypes 1 and 2 remain unaltered but serotype 3 will lose its potency to a great extent.
Conclusions: Although Polio viruses are relatively resistant to environmental conditions, their sensitivity to heat is the reason to transport the vaccine, which contains live attenuated virus, under cold chain conditions. This will prevent the titer of the vaccine virus to decrease. Vaccine stored at temperature below 4°C is preferred, otherwise the vaccine kept at room temperature (24°C) is useable for 4-5 days, and at 37◦C the vaccine is potent only for one day.

Key words: Oral Polio Vaccine, Potency, Cold Chain

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-03-24]