

# Swoista odpowiedź na toksoid tężcowy w klasie IgE i IgG po szczepieniu przypominającym szczepionką TyT lub Td

## Specific IgE and IgG response to tetanus toxoids after TyT and Td booster

MARIA FIEJKA <sup>1/</sup>, ANNA FORDYMACKA <sup>1/</sup>, PAULINA GÓRSKA <sup>1/</sup>, JERZY KRUSZEWSKI <sup>2/</sup>, JÓZEF KNAP <sup>3/</sup>, JANUSZ ŚLUSARCYK <sup>1/</sup>

<sup>1/</sup> Zakład Badania Surowic i Szczepionek Państwowego Zakładu Higieny, ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa

<sup>2/</sup> Klinika Chorób Infekcyjnych i Alergicznych Instytutu Medycyny Wewnętrznej WAM, ul. Szaserów 128, 00-909 Warszawa

<sup>3/</sup> Komenda Straży Granicznej, Wydział Zdrowia, ul. 17 Stycznia 23, 00-950 Warszawa

Szczepionki zawierające toksoid tężcowy i błoniczy (DT, Td, T, DTP) adsorbowane na wodorotlenku glinu powodują często występowanie miejscowych reakcji poszczepiennych. Glin, niezależnie od stymulacji odpowiedzi humoralnej w klasie IgG, stymuluje również wytwarzanie swoistych przeciwciał klasy IgE.

Celem pracy było porównanie poziomu przeciwciał przeciw tężcowi w klasie IgE w odpowiedzi na szczepienie przypominające po podaniu szczepionki Td adsorbowanej na żelu wodorotlenku glinu i płynnej szczepionki TyT.

Badaniu poddano dwie grupy poborowych w wieku 19-21 lat. Jedną z grup zaszczepiono szczepionką Td, drugą – szczepionką TyT. Poziom przeciwciał w surowicy oznaczono przed (n = 88) i 3 miesiące po szczepieniu (n = 84) za pomocą testu ELISA.

Przeprowadzone badania wykazały, że podanie dawki przypominającej szczepionki Td wywołało statystycznie istotny (p=0,0011) wzrost poziomu swoistych przeciwciał w klasie IgE (0,15±0,3) w porównaniu do poziomu przed szczepieniem (0,04±0,1). Nie stwierdzono natomiast statystycznie znaczącego wzrostu poziomu swoistych przeciwciał IgE po szczepieniu TyT (p>0,05). Nie obserwowano również istotnych różnic w całkowitym poziomie IgE, zarówno w grupie szczepionych Td (p > 0,05), jak i TyT (p > 0,5) w porównaniu do poziomu przeciwciał przed szczepieniem.

Wyniki badań wskazują, że szczepionka adsorbowana na wodorotlenku glinu wywoływała statystycznie istotny wzrost poziomu przeciwciał przeciw tężcowi w klasie IgE w porównaniu do szczepionki płynnej.

*Alergia Astma Immunologia, 2001, 6(4), 205-208*

**Słowa kluczowe:** immunoglobulina E, szczepienie przypominające, adiuwant glinowy, szczepionka Td, szczepionka TyT

Aluminum hydroxide adsorbed vaccines including diphtheria and tetanus toxoids (DT, Td, T, DTP) frequently cause local adverse reactions. Aluminum stimulates not only the synthesis of IgG but also IgE antibodies.

The aim of this study was to compare the total and specific anti-tetanus IgE antibody response following booster immunization with either aluminium adsorbed (Td) or non-adsorbed (TyT) vaccines.

Two groups of young men aged 19-21 years were examined. One of the groups was vaccinated with Td, and another with TyT vaccine. Antibodies titration was performed in sera obtained before (n=88) and 3 months after (n=84) vaccination with ELISA. Positive sera selected during screening examination were referred as a control.

The study indicated statistically significant (p=0.0011) increase of level of specific anti-tetanus IgE antibodies (0.15±0.3) after Td booster vaccination, in comparison to the pre-vaccination level (0.04±0.1). No statistically significant increase of antibodies after TyT booster vaccination was observed (p>0.05). We have not found any significant differences in the total IgE level between both groups neither before nor after vaccination.

The results indicate that aluminum hydroxide gel adsorbed vaccine caused significant increase of specific anti-tetanus IgE antibodies class after vaccination, when compared with non-adsorbed vaccine.

*Alergia Astma Immunologia, 2001, 6(4), 205-208*

**Key words:** immunoglobulin E, booster vaccination, aluminium adjuvant, Td vaccine, TyT vaccine

Szczepionki adsorbowane na wodorotlenku glinu, zawierające między innymi w swym składzie anatoksyny tężcowe (DT, Td, T, DTP), wywołują często niepożądane, miejscowe odczyny poszczepienne. Występowanie tych

odczynów ma miejsce przede wszystkim po szczepieniach przypominających. Uważa się, iż wśród możliwych czynników reaktogennych istotną rolę może odgrywać wodorotlenek glinu [1]. Może on być przyczyną nie tylko

występowania bolesności, obrzęku, grudkowatych zgrubień w miejscu szczepienia, ale również indukcji swoistych przeciwciał w klasie IgE, niezależnie od odpowiedzi w klasie IgG [2,3,4]. Rola swoistych przeciwciał w klasie IgE w mechanizmach obronnych przeciw zakażeniom bakteryjnym jest nieznana. Natomiast IgE może brać udział w patogenezie chorób alergicznych. Dlatego też, w kompleksowym problemie odczynów poszczepiennych, istotną rolę może mieć wzrost poziomu swoistych immunoglobulin E pod wpływem glinu.

Zgodnie z rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dn. 21.06.2000 r. w sprawie zasad przeprowadzania szczepień ochronnych przeciw chorobom zakaźnym, osoby dorosłe w wieku do 30 lat jako szczepienie przypominające przeciw tężcowi powinny otrzymać jedną dawkę szczepionki Td, bądź, zależnie od lokalnej sytuacji epidemiologicznej – TyT.

Celem pracy było porównanie poziomu przeciwciał przeciw tężcowi w klasie IgE oraz IgG w odpowiedzi na szczepienie przypominające po podaniu szczepionki adsorbowanej na żelu wodorotlenku glinu (Td) i szczepionki płynnej (TyT).

## PACJENCI I METODY

Badaniami objęto dwie grupy poborowych w wieku 19-21 lat, którzy poddani byli obowiązkowym szczepieniom szczepionką Td lub TyT, w zależności od charakteru wykonywanej służby wojskowej. Oznaczenia poziomu przeciwciał wykonywano w próbkach surowicy uzyskanych przed szczepieniem (n=88) i po upływie 3 miesięcy od podania szczepionki Td (n=84) i TyT (n=26).

Poziom przeciwciał oznaczany był immunoenzymatycznym testem ELISA. W przypadku oznaczania całkowitego poziomu przeciwciał IgE stosowano komercyjny zestaw IgE ELISA Test Kit (Alexon – Trend, USA). Do oznaczenia swoistych przeciwciał przeciw tężcowi w klasie IgE opracowano test immunoenzymatyczny w oparciu o metodę podaną przez Aggerbeck [9].

Płytki polistyrenowe (Nunc Maxi-Sorp) opłaszczano przeciwciałami króliczymi anti-ludzkie IgE (Daco A 094). Przeciwciała rozcieńczano uprzednio 1/700 w buforze węglanowym, pH 9,6. Do każdego dołka na płytce dodano po 100 µl roztworu i inkubowano w komorze wilgotnej w temperaturze 37°C przez 2 h, a następnie w temperaturze 4°C przez noc.

Po blokowaniu i płukaniu, do dołków A1-A8 dodawano bufor do rozcieńczeń (PBS+1%BSA) w ilości 100 µl/dołek. Do pozostałych dołków dodawano próbki badanej surowicy rozcieńczonej dwukrotnie, każdą w duplikacie. Płytkę przykrywano i inkubowano w komorze wilgotnej w temperaturze 37°C przez 2 h, a następnie przenoszono do lodówki i pozostawiano przez noc. W kolejnym etapie, dodawano do każdego dołka po 100 µl biotynylowanego

toksoиду tężcowego (rozcieńczenie 1/1000). Koniugat stanowiła streptawidyna znakowana peroksydazą (rozc.1/100). Jako substratu użyto OPD. Wartości gęstości optycznej odczytywano przy długości fali 492 nm.

Spośród zbadanych prób wyselekcjonowano próby wysoko dodatnie (wartość OD powyżej 1) i przygotowano wzorzec roboczy będący pułą surowic dodatnich (1 jednostka robocza/ml). Wszystkie próbki surowic przebadano ponownie wobec wzorca roboczego, poziom przeciwciał tężcowych w klasie IgE określono w j/ml. Wyniki badań miana przeciwciał tężcowych w klasach IgE i IgG porównywane były z wykorzystaniem analizy wariancji ANOVA; korelacja między wzrostem przeciwciał przeciw tężcowi w klasie IgG i IgE analizowano przy pomocy programu STATGRAPHICS.

## WYNIKI

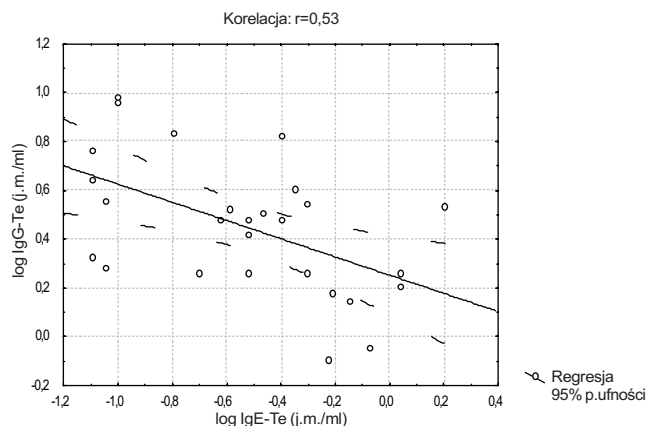
Oznaczenie poziomu przeciwciał tężcowych immunoenzymatycznym testem ELISA wykonano w 88 próbkach surowicy krwi uzyskanych od osób przed szczepieniem oraz w 84 próbkach surowicy krwi osób po upływie 3 miesięcy od szczepienia Td i w 26 próbkach surowicy po upływie 4 miesięcy od szczepienia TyT. Wyniki tych badań zostały przedstawione w tab.I w postaci średnich wartości poziomu przeciwciał przeciw tężcowych w klasie IgE, IgG oraz całkowitego poziomu IgE.

Tabela I. Poziom całkowitego i swoistych przeciwciał przeciw tężcowi (średnia arytmetyczna ± SD) przed szczepieniem oraz po podaniu szczepionki adsorbowanej na wodorotlenku glinu Td lub szczepionki płynnej TyT

	IgE (j.m./ml)	swoiste IgE (j.r./ml)	swoiste IgG (j.m./ml)
Poziom przeciwciał przed szczepieniem	66,0 ± 102,1	0,04 ± 0,1	2,5 ± 1,1
Poziom przeciwciał po szczepieniu szczepionką Td	59,8 ± 98,9	0,15* ± 0,3	3,7 ± 2,9
Poziom przeciwciał po szczepieniu szczepionką TyT	48,8 ± 73,8	0,1 ± 0,2	4,8 ± 0,9

j.r. jednostki robocze  
\* p<0,01

Przeprowadzone badania wykazały, że podanie dawki przypominającej szczepionki Td wywołało statystycznie istotny (p = 0,0011) wzrost poziomu swoistych przeciwciał tężcowych w klasie IgE (0,15±0,3) w porównaniu do poziomu przed szczepieniem (0,04±0,1) (ryc.1). Nie stwierdzono natomiast statystycznie znamiennego wzrostu poziomu swoistych przeciwciał w klasie IgE po szczepieniu TyT (p > 0,05). Nie obserwowano również istotnych różnic w całkowitym poziomie przeciwciał IgE, zarówno w grupie szczepionych Td (p > 0,05), jak i TyT



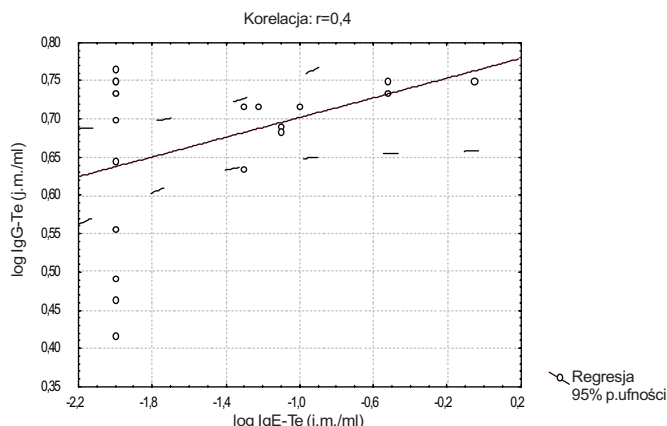
Ryc. 1. Porównanie korelacji poziomu przeciwciał przeciw tężcowi w klasie IgE i IgG po szczepieniu przypominającym szczepionką Td

( $p > 0,05$ ) w porównaniu do poziomu przeciwciał przed szczepieniem. Porównanie odpowiedzi humoralnej w obrębie grupy szczepionej adsorbowaną szczepionką lub płynną szczepionką nie wykazały korelacji między miarą przeciwciał tężcowych w klasie IgG i w klasie IgE (ryc.1,2).

## DYSKUSJA

W ramach obowiązującego kalendarza szczepień dzieci i młodzieży (PSO z dnia 21.06.2000 r. Poz.664) do uodporniania przeciw tężcowi stosowane są w Polsce szczepionki produkcji krajowej, szczepionka DTP – dla podstawowej serii szczepień (4 dawki) oraz dla szczepień przypominających szczepionki DT i Td (3 dawki). Zalecane są również dla dorosłych szczepienia przypominające co 10 lat szczepionką Td. Szczepionki te zawierają w swym składzie antygenowym między innymi 10 Lf toksoidu tężca, który jest adsorbowany na wodorotlenku glinu. Wymienione szczepionki różnią się jednak zawartością glinu, którego koncentracja w szczepionce DTP i DT powinna być mniejsza lub równa 0,7 mg/dawkę oraz 0,5 mg /dawkę w szczepionce Td. Jakkolwiek związki glinu są obecnie nadal jedynymi akceptowanymi przez E Ph (Europejska Farmakopea) i US Ph (Amerykańska Farmakopea) adiuwantami stosowanymi w szczepionkach dla ludzi, to jednak mogą być one również źródłem niepożądanych reakcji poszczepiennych [5], wśród których istotnym aspektem jest stymulacja swoistej odpowiedzi humoralnej w klasie IgE [6,7,8].

Przedstawione wyniki badań wskazują na statystycznie istotny wzrost poziomu swoistych przeciwciał tężcowych w klasie IgE po podaniu szczepionki Td jako czwartej dawki szczepienia przypominającego, w porównaniu do poziomu przed szczepieniem. Wzrost poziomu przeciwciał przeciw tężcowi w klasie IgE nie był jednak na tyle wysoki, by mógł być wykryty w całkowitej zawartości immunoglobulin IgE. W badaniach serologicznych przeprowadzonych wśród poborowych w Danii, mimo pew-



Ryc. 2. Porównanie korelacji poziomu przeciwciał przeciw tężcowi w klasie IgE i IgG po szczepieniu przypominającym szczepionką TyT

nych różnic w programie szczepień (wiek, skład wielowalnej szczepionki), stwierdzono również w następstwie szczepienia przypominającego wzrost poziomu swoistych przeciwciał tężcowych w klasie IgE, nie pociągający za sobą jednak istotnych zmian w całkowitym poziomie immunoglobulin IgE [9].

Podanie dawki przypominającej szczepionki TyT, nie zawierającej wodorotlenku glinu, nie prowadziło natomiast do istotnego wzrostu poziomu swoistych przeciwciał w klasie IgE w surowicy krwi poborowych. Wyniki nasze są zgodne z rezultatami badań innych autorów dotyczących odpowiedzi przeciw tężcowi w klasie IgE po szczepieniu przypominającym adsorbowaną szczepionką w porównaniu z płynną [8,10].

Z przeprowadzonych badań wynika również, że wzrost poziomu przeciwciał przeciw tężcowi w klasie IgE po szczepieniu przypominającym nie był związany ze wzrostem przeciwciał przeciw tężcowi w klasie IgG. Wzrost przeciwciał przeciw tężcowi w klasie IgG po podaniu szczepionki płynnej lub adsorbowanej był porównywalny. Podobne wyniki przyniosły badania przeprowadzone wśród poborowych w Danii, u których nie wykazano różnic w poziomie przeciwciał przeciw tężcowi po szczepieniu przypominającym pomiędzy szczepionką adsorbowaną i płynną [11]. Badania odpowiedzi humoralnej po upływie 2 lat po szczepieniu przypominającym dzieci w wieku 10 lat adsorbowaną lub płynną szczepionką DT wykazały utrzymanie się ochronnego poziomu przeciwciał w klasie IgG, niezależnie od szczepionki [12].

Uzyskanie porównywalnej swoistej odpowiedzi w klasie IgG po szczepieniu przypominającym szczepionką płynną i adsorbowaną sugerować może potrzebę dalszych badań weryfikujących obecną praktykę stosowania szczepionek zawierających wodorotlenek glinu na wszystkich etapach immunizacji.

Reasumując wyniki naszych badań należy stwierdzić, że szczepionka zawierająca toksoid tężcowy adsorbowana

na żelu wodorotlenku glinu wywołuje istotny wzrost swoistych przeciwciał przeciw tężcowi w klasie IgE; nie stwierdzono takiego zjawiska po podaniu szczepionki płynnej.

Wzrost miana przeciwciał przeciw tężcowi w klasie IgE nie jest związany ze wzrostem miana przeciwciał prze-

ciw tężcowi w klasie IgG po adsorbowanej lub płynnej szczepionce zawierających toksoid tężcowy

Obserwowano porównywalny wzrost poziomu przeciwciał przeciw tężcowi w klasie IgG po podaniu w szczepieniu przypominającym szczepionki płynnej lub adsorbowanej.

## Piśmiennictwo

1. Blennow M, Granstrom M, Strandell A. Adverse reactions after diphtheria-tetanus booster in 10-year-old schoolchildren in relation to the type of vaccine given for the primary vaccination. *Vaccine* 1994; 12: 427-430.
2. Slater DN, Underwood JCE, Durrant TE i wsp. Aluminium hydroxide granulomas: light and electron microscopic studies and X-ray microanalysis. *Br J Dermatol* 1982; 107: 103-108.
3. Fawcett HA, Smith NP. Injection-side granuloma due to aluminum. *Arch Dermatol* 1984; 120: 1318-1322.
4. Cox NH, Moss C, Forsyth A. Allergy to non-toxoid constituents of vaccines and implications for patch testing. *Contact Dermatitis* 1988; 18: 143-146.
5. Gupta RK, Relyveld EH. Adverse reactions after injection of adsorbed diphtheria-pertussis-tetanus (DPT) vaccine are not due only to pertussis organism or pertussis components in the vaccine. *Vaccine* 1991; 9: 699-702.
6. Nagel J, Svec D, Waters T, Fireman P. IgE synthesis in man. I. Development of specific IgE antibodies after immunization with tetanus diphteria (Td) toxoids. *J Immunol* 1977; 118: 334-341.
7. Matuhasi T, Ikegami H. Elevation of IgE antibody to tetanus toxin in individuals vaccinated with diphtheria-pertussis-tetanus vaccine. *J Infect Dis* 1982; 146: 285-290.
8. Cogne M, Ballet JJ, Schmitt C, Bizzini B. Total and IgE antibody level following booster immunization with aluminium absorbed and nonabsorbed tetanus toxoid in humans. *Ann Allergy* 1985; 54: 148-151.
9. Aggerbeck H, Fenger Ch, Heron I. Booster vaccination against diphtheria and tetanus in man. Comparison of calcium phosphate and aluminium hydroxide as adjuvants-II. *Vaccine* 1995; 13: 1366-1374.
10. Mark A, Bjorksten MA, Granstrom M. Immunoglobulin E responses to diphtheria and tetanus toxoids after booster with aluminium-adsorbed and fluid DT-vaccines. *Vaccine* 1995; 13: 669-673.
11. Aggerbeck H, Wantzin J, Heron I. Booster vaccination against diphtheria and tetanus in man. Comparison of three different vaccine formulations-III. *Vaccine* 1996; 14: 1265-1272.
12. Bjorksten MA, Granstrom M. Immunoglobulin E and G antibodies two years after a booster dose of an aluminium-adsorbed or a fluid DT vaccine in relation to atopy. *Pediatr Allergy Immunol* 1997; 8: 83-87.