

KONTROLI FORTËSISË SË METODËS SË PËRCAKTIMIT TË TIOMERSALIT NË VAKSINËN E DTP

MERITA KUÇUKU, DONIKA BOÇARI, BESNIK BARAJ,
KOZETA VASO, MAJLINDA PERJA*

Summary

CONTROL OF THE ROBUSTNESS OF THE METHOD OF DETERMINATION OF THIOMERSAL IN DTP VACCINE

In this proceeding is studied robustness of the method of determination of Thiomersal by spectrophotometer (1), in final product of DTP Vaccine. This method was used from Control Laboratory of Vaccine of Institute of Public Health during process of DTP vaccine production. It is not a standard method and this method is not preferred from WHO (World Health Organization), but it is a practical, simple method for quality control of vaccine during process of production.

Experiment is performed using Method of Factorial Design.

There are taken into consideration the factors: temperature, light and time. For each of the factors are considered 2 values: maximal value (+1) and minimal value (-1). We used two methods: Method of Calibration Curves and Method of Standard Additions.

For every method we studied eight probable combinations.

From this study results that can not be received accurate results for determination of thiomersal by method (1), because of this method can not eliminate interferences from adjuvant in final product.

Në përgjithësi vaksinat përmbajnë konservantë, që pengojnë zhvillimin e mikroorganizmave, të bakterieve dhe mykërave. Një lëndë konservante është tiomersali (Thiomersal). Ky është komponim organik që përmban Hg në formën e etil-Hg tiosalicilat, i cili është mjaft toksik (4). Tiomersali shtohet gjatë procesit të prodhimit për të penguar rritjen e mikroorganizmave, ndonëse ndotja e vaksinave mund të ndodhë edhe në prani të konservantëve. Konservantët e përdorur duhet të plotësojnë dy kushte:

1-Sasia e përdorur të jetë jotoksike për dozat e këshilluara për përdorim.

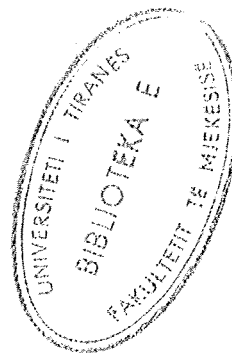
2-Nuk duhet të denatyrojë substancën specifike në produkt, që do të sillte si pasojë një zvogëlim nën minimalen e lejuar të potencës së vaksinës edhe në periudhën dhe në temperaturën e ruajtjes së rekomanduar.

Sasia e tiomersalit të përdorur sot në vaksina nuk është standarte, por në firmat nga të cilat importon Shqipëria është jo $> 0.01\%$ (5).

* Dërguar në Redaksi në Shtator 2007, miratuar për botim Dhejtor 2007.

Nga Qendra Kombetare e Kontrollit të Barnave.

Adresa për letërkëmbim: Kërçuku M., Qendra Kombetare e Kontrollit të Barnave.



Nëse ulet sasia e tiomersalit do të shtohet siguria por do të ulet koha e ruajtjes së vaksinës.

Tiomersali është i dëmshëm për shëndetin e njerëzve (6).

Frymëmarrja, gëlltitja si dhe absorbimi nëpërmjet lëkurës në sasi shumë të vogla, mund të shkaktojë dëmtime të konsiderueshme të lëkurës dhe mundet nganjëherë të jetë vdekjeprurës.

Neurotoksiciteti

Epidemiologë të ndryshëm kanë konstatuar se një pjesë e fëmijëve me probleme mendore, kanë simptoma të ngjashme me ata që kanë helmime nga Hg. Tashmë Hg konsiderohet si shkak i autizmit. Rritja e numrit të vaksinimeve rrit mundësinë e ekspozimit të njeriut ndaj tiomersalit. Njëkohësisht flakonet me shumë doza (multidozë), që dihet se kushtojnë më lirë se ampulat me dozë të vetme, kërkojnë një shtim të koncentrimin të tiomersalit mbi normën e lejuar dhe kjo për të penguar ndotjen e vaksinës, nga shpimet e përsëritura të flakonit.

Lidhja midis autizmit dhe vaksinës është fokusi i një studimi të rëndësishëm. Në shtetin e Kalifornisë numri i të sëmurëve mendore në vitin 1998 u rrit 210% në krahasim me vitin 1987. Megjithatë kjo është disi e vështirë të përcaktohet pasi duhet të merret në studim truri. Në vitin 2004 The Institute of Medicine, "Vaccine Safety Review Committee", nëpërmjet studimit të evidencave në dispozicion, konstatoi një mundësi të lidhjes së autizmit me vaksinat. Kjo është një hipotezë e bazuar në evidencat.

Tiomersali ndikon negativisht tek fëmijët e prekur nga astma. Për këtë shkak këshillohet kujdes i veçantë në njerëzit që kanë probleme alergjike.

Nga studimet ka rezultuar se tiomersali paraqet veti kancerogjene (7).

Qëllimi: Të studiohet qëndrueshmëria e metodës spektrofotometrike të përcaktimit të tiomersalit, (WHO) në produktin e gatshëm të vaksinës DTP.

Mjetet e punës

Matjet u kryen me Spectrometër UNICAM HELIOS, me një rreze, në gjatësinë e valës =480

Reagentët ishin të firmave: Merc (Thiomersal), (CH₃COONH₄), Perking's (Dithizone), LABOSI (Acide Nitrique Analyapur), Fisher (Cloroforme Analyapur).

Planifikimi i eksperimentit

Zhvillimi i eksperimentit është bërë mbi bazën e planifikimit faktorial me tre faktorë:

Temperaturë, kohë, ndriçim dhe 2 nivele: maximale (+1) dhe minimale (-1), të cilët janë përcaktuar në bazë të metodës statistikore (8).

Kodimi i faktorëve që janë marrë në studim është paraqitur në tabelën e mëposhtme:

Xj/i	Ndriçimi X1	Koha X2	Temperatura X3
1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1
3	-1	+1	-1
4	+1	+1	-1
5	-1	-1	+1
6	+1	-1	+1
7	-1	+1	+1
8	+1	+1	+1

Modelet lejojnë vlerësimin e faktorëve të interesuar dhe bashkëveprimin e tyre të mundshëm (9). Metodologjia e përdorur në planifikimin faktorial kërkon formulimin e një modeli matematik, vlerësimin e përafërt midis sinjalit të matur dhe ndikimit të faktorëve që studiohen (ndriçim, kohë, temperaturë).

Rezultate dhe diskutime.

Në tabelën nr.1 janë dhënë vlerat e koncentrimin të tiomersalit në vaksinën DTP, të përcaktuara me metodën spektrofotometrike me lakore kalibrimi në kushte të ndryshme eksperimentale.

Tabela nr.1 Metoda e lakoreve të kalibrit

Kushtet			PARAMETRAT			
X3	X1	X2	R ²	Abs	Konc. mg/L	Konc. në %
-1	1	-1	0.997	0.088	87.75	0.0088
-1	-1	-1	0.9985	0.079	81.03	0.0081
-1	1	1	0.9952	0.059	78.66	0.0079
1	1	1	0.9807	0.04	60.00	0.006
1	-1	-1	0.998	0.048	48.93	0.0049
1	-1	1	0.9904	0.028	42.31	0.0042
1	1	-1	0.9808	0.02	29.9	0.003
-1	-1	1	0.9934	0.033	37.72	0.0038

Shënim: (koncentrimi i tiomersalit të raportuar në vaksinë 0.0095%).

Në tabelën nr.2 janë dhënë rezultatet e matjeve spektrofotometrike me metodën e shtesave standarte per tiomersalin ne vaksinën e gatshme DTP.

Tabela nr.2 Matjet me metodën e shtesave standarte

Kushtet			Parametrat	Nivelet e përqëndrimit të shtesave standarte mg/l					R ²
X3	X1	X2		0.000	0.625	1.250	1.875	2.500	
-1	1	-1	Abs	0.048	0.108	0.128	0.160	0.171	0.9699
			Konc. mg/l	1.329	7.410	32.100	12.675	17.910	
			Konc. në %	0.0001	0.0007	0.0032	0.0013	0.0018	
-1	-1	-1	Abs	0.034	0.048	0.076	0.112	0.122	0.9845
			Konc. mg/l	0.792	9.616	12.030	16.820	17.870	
			Konc. në %	0.0001	0.0010	0.0012	0.0017	0.0018	
-1	1	1	Abs	0.026	0.022	0.059	0.044	0.052	0.7963
			Konc. mg/l	2.190	135.775	11.750	33.970	39.150	
			Konc. në %	0.0002	0.0136	0.0012	0.0034	0.0039	
1	1	1	Abs	0.020	0.025	0.032	0.057	0.060	0.9557
			Konc. mg/l	0.916	16.025	28.800	15.175	22.500	
			Konc. në %	0.0001	0.0016	0.0029	0.0015	0.0023	
1	-1	-1	Abs	0.028	0.029	0.063	0.090	0.110	0.9712
			Konc. mg/l	12.500	1.025	8.350	19.475	15.750	
			Konc. në %	0.0013	0.0001	0.0008	0.0019	0.0016	
1	-1	1	Abs	0.018	0.020	0.032	0.060	0.096	0.9162
			Konc. mg/l	0.382	31.525	1.750	12.675	10.450	
			Konc. në %	0.0000	0.0032	0.0002	0.0013	0.0010	
1	1	-1	Abs	0.032	0.036	0.078	0.095	0.101	0.9637
			Konc. mg/l	6.100	18.605	16.150	21.475	6.500	
			Konc. në %	0.0006	0.0019	0.0016	0.0021	0.0007	
-1	-1	1	Abs	0.023	0.024	0.059	0.048	0.068	0.8866
			Konc. mg/l	0.843	40.425	15.100	16.975	7.700	
			Konc. në %	0.0001	0.0040	0.0015	0.0017	0.0008	

Diskutim

Nga rezultatet me "Metodën e lakoreve të kalibrimit", për të 8 kombinimet në tabelën 1 shohim se kurba ka koeficiente të korrelacionit R^2 të mirë, vija e lakores është lineare dhe kalon nga origjina. Vlerat e R^2 lëvizin nga 0.9904 deri në 0.9985. Vlera 0.9904 i pergjigjet kushtit të temperaturës dhe kohës në vlerën maksimale (+1) dhe ndriçimit minimal (-1), ndërsa koeficienti i korrelacionit maksimal të kurbës vërehet në rastin e kombinimit të 3 faktorëve në vlerat e tyre minimale. Kjo tregon që vaksina DTP e analizuar është shumë e paqëndrueshme ndaj temperaturës, dritës dhe kohës. Vlerat e llogaritura të koncentrimit të vaksinës variojnë në intervale të gjëra gjatë ndryshimit të kushteve të punës dhe vetëm në 2 raste i afrohen vlerës së raportuar në protokollin e analizave të firmës prodhuese (afërsisht deri 93% të vlerës). Kjo në kushtet e temperaturës minimale 15°C, koha minimale 3 min dhe në kushtet e ndriçimit natyral.

Metoda e shtesave standarte paraqet një tablo krejt të ndryshme, në të cilën vërejmë ndryshime të dukshme të R^2 të kurbës së kalibrimit dhe vlera nga më të ndryshmet, për koncentrimin e tiomersalit në vaksinë. Me anën e kësaj metode asnjëherë vlerat e

koncentrimeve të tiomersalit të shprehura në % nuk përputhen dhe nuk afrohen me vlerat e raportuara në protokollin e analizave të firmës prodhuese.

Metoda e shtesave standarte nuk mund të përdoret për vlerësimin e koncentrimit të tiomersalit në produktin e gatshëm të vaksinës. Nga të dy metodat e mësipërme shohim një paqëndrueshmeri vlerash që tregon se metoda e përdorur nuk është e qëndrueshme për kontrollin e produktit të gatshëm të DTP.

Konkluzion.

Kjo metodë është krejt e papërshtatshme për kontrollin e tiomersalit në produktin final, për shkak të paqëndrueshmërisë së mostrës në kushte të ndryshme eksperimentale, gjë që mund të shkaktohet edhe nga interferencat e aditivëve.

Rekomandim.

Për kontrollin e tiomersalit në vaksinë e DTP dhe vaksina të tjera duhet të përdoren metoda të tjera si: "Metoda standarte spektrofotometrike" ose metodat HPLC, GC ose GC-MS. (10)1. WHO. BLG/UNDP/77.2, Manual for the production and control of vaccine DTP, 1966, (84).

BIBLIOGRAFIA

2. Hoxha.F., Kotro.A.: Matematikë e zbatuar, Shblu, Tiranë 2002, (224-234).
3. Rohyons J., Walson PD, Wood GA, Mac Donald W.A.: Mercury toxicity Following merthiolate ear irrigations. J Pediatrics 1994, 104, (311-313).
4. European Pharmacopoeia, third edition, 1997, (263).
5. ATSDR, 1999. Managing Hazardous Materials Incidents, Vol.III-Medical Management Guide lines for Acute Chemical Exposures. Mercury Atlanta, GA, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
6. Ball L.K, Ball R, Pratt R.D.: An Assessment of thiomersal use in childhood Vaccines. Pediatrics 2001, (11471-154).
7. Bernard S., Enayati A., Red Wood Ll., Roger H., Binstock T.: Autism a novel form of mercury poisoning. Med Hypotheses 2001, (56), (462-471).
8. Naqo M.: Statistika Matematike, Shblu, Tiranë 2005 (177-238), (253-258).
9. Hoxha F., Kotro A.: Matematika e zbatuar. Shblu, Tiranë 2002, (223).
10. National Institute of Infectious diseases. Minimum Requirements for Biological Products. Japan 2006, (291-293).