

УДК 619:578.824.11:616-07

## ВПЛИВ ІМУНОМОДУЛЯТОРІВ НА АНТИРАБІЧНИЙ ІМУНІТЕТ

**Недосєков В.В.**, д.вет.н., професор,  
**Мартинюк О.Г.**, к.вет.н., асистент,  
**Козленко Т.Г.**, аспірант

Національний університет біоресурсів і природокористування України,  
м.Київ

**Сливко І.А.**, к.вет.н.

**Сливко В.В.**, к.вет.н.

ГНУ Всеросійський НДІ ветеринарної вірусології і мікробіології,  
м. Покров, Росія.

*У статті представлені результати досліджень з вивчення можливості використання різних засобів (гідроксал, мідантан, бромантан) для посилення імунної відповіді. Показано, що найбільш технологічно обґрунтованим є застосування гідроокис алюмінію і хітозану.*

*Доведено доцільність використання хітозану для концентрування антигену вірусу сказу, що відкриває нові можливості для інтрадермального ін'єктування антирабічних інактивованих вакцин а також для використання як ад'юванта, оскільки активність отриманого матеріалу з 0,1% хітозану практично не поступається препаратам з  $Al(OH)_3$ .*

**Ключові слова:** імуномодулятор, імуногенність, антирабічний імунітет, ад'ювант, вірус сказу.

**Постановка проблеми.** Імуномодулятори (ІМД) у ветеринарній практиці використовуються понад 50 років. У вакцинології різні групи імуномодуляторів використовуються для підвищення імуногенності інактивованого препарату шляхом підсилення захисної відповіді організму на введення заданого антигену.

Незважаючи на наявність широкого спектру ІМД існує об'єктивна необхідність пошуку та застосування нових препаратів, рецептур ад'ювантів для підвищення ефективності інактивованих вакцин, і особливо антирабічних.

**Аналіз останніх публікацій.** Рядом досліджень показані висока ад'ювантна і протективна активність глікомураміддипептиду (ГМДП), його протипухлинна дія, здатність стимулювати функціональну активність фагоцитуючих клітин і лімфоцитів [1; 2]. Широке поширення одержали препарати полісахаридів, які є потужними природними неспецифічними стимуляторами імунної системи, одним з яких є хітозан [3-6].

**Мета роботи:** вивчення вплив ряду імуностимулюючих препаратів на антирабічний імунітет з метою оптимального використання їх у технології виготовлення інактивованої антирабічної вакцини.

**Матеріали і методи досліджень.** Для тестування використовували експериментальну серію препарату, який представляв собою інактивований вірус сказу (ВС), штам ТС-80, з антигенною активністю 1,8 МО.

З метою вивчення ефективної стимуляції імунітету були вивчені комерційні препарати мідантан, бромантан і гідроокис алюмінію.

Для вивчення сорбуючих властивостей використовували водний розчин хітозану (М 37,8) у кінцевій концентрації 0,1%. Адсорбцію проводили впродовж 1 години за температури 4 °С.

**Результати досліджень.** Препарати об'ємом 0,1 см<sup>3</sup> (мідантан - 10 мг/см<sup>3</sup>; бромантан - 10 мг/см<sup>3</sup>), вводили 20-ти білим мишам, масою 20-25 г і одночасно ін'єктували інактивований ВС (групи I, II). Тваринам в групі III, внутрішньом'язово вводили інактивований антиген вірусу сказу (ВС) на основі 0,6% гідроокису алюмінію. Тваринам групи IV вводили лише інактивований вірус, а тваринам групи V – фосфатно-буферний розчин (ФБР). За тваринами спостерігали впродовж 21 доби, з подальшим відбором сироватки крові для тестування в ІФА на рівень антирабічних антитіл (табл. 1).

Таблиця 1

**Результати оцінки антирабічної відповіді за використання різних препаратів, n=3**

№	Група	Препарат	Титр антитіл*
1	I	Антиген ВС+ Гідроксал	710
2	II	Антиген ВС+ Мідантан	270
3	III	Антиген ВС + Бромантан	-
4	IV	Антиген ВС	270
5	V	ФБР (плацебо)	0

Примітка: \* середні значення отримані в 3-х дослідах і виражені в одиницях зворотніх розведенню.

Представлені результати показують, що з випробуваних препаратів зростання титру антитіл спостерігалось лише за використання гідроокису алюмінію.

У наступному експерименті була вивчена здатність глікомурамідпептиду стимулювати рівень антитілоутворення у мишей. Для цього використовували 6 груп білих мишей (по 15 гол.), яким внутрішньом'язово вводили по 0,1 см<sup>3</sup> ГМДП в дозах від 0,1 до 100 мкг на голову і водночас інокулювали по 0,1 см<sup>3</sup> інактивованого антигену ВС. По закінченню 21 доби проводили оцінку титру антирабічних антитіл в непрямому варіанті ТФ ІФА і РН в культурі клітин НС (табл. 2).

**Результати випробувань впливу ГМДП на рівень антирабічних антитіл, n=3**

№	Групи	Препарат	доза ГМДП (мкг)	Титри антитіл	
				ТФ ІФА*	РН
1	I	Антиген ВС + ГМДП	0,1	210	1:8
2	II		1	710	1:128
3	III		10	710	1:32
4	IV		100	210	1:16
5	V	Антиген ВС + Al (OH) <sub>3</sub>	-	710	1:64
6	VI	Антиген ВС+ ФБР (плацебо)	-	270	1:32

Примітка: \* середні значення отримані в 3-х дослідах і виражені в значеннях зворотних розведенню.

Представлені в таблиці 2 дані показують, що при введенні мишам ГМДП в дозі 1-10 мкг на голову імуногенність інактивованого антигену вірусу сказу була аналогічна рівнем антитіл отриманого при застосуванні гідроксиду алюмінію.

Додатково провели тестування ГМДП на тхорзофретках (віком 6-9 місяців). Для цього двом тваринам вводили по 1 см<sup>3</sup> антигену вірусу сказу одночасно з інокуляцією ГМДП у дозі 100 мкг/голову, а іншим двом тваринам ін'єктували тільки антиген вірусу сказу.

Встановлено, що титр антирабічних антитіл під впливом ГМДП зростає у 2 рази.

З урахуванням практичної придатності, оптимальним препаратом для стимуляції імунної відповіді та формування рівня антирабічних ВНА є гідроокис алюмінію.

Наступним етапом нашої роботи було вивчення імуностимулюючих властивостей препаратів хітозану. Встановлено, що використання хітозану дозволяє формувати візуально видимий осад впродовж 1 години, що становить 15-20 % загального обсягу матеріалу. Низько швидкісне центрифугування (1000 об/хв. протягом 10 хв) дає можливість отримати осад в обсязі не більше 10%.

Отриманий матеріал тестували на імуногенність порівнюючи з антигеном вірусу сказу, що приготований на основі гідроокису алюмінію. Встановлено, що імуногенність гомогенної антирабічної суспензії з хітозаном склала - 0,9 МО, а активність гідроокис сорбованих препаратів - 0,96 МО.

Крім цього оцінили можливість концентрування антигену вірусу сказу за допомогою хітозану. Показано, що після концентрування імуногенність супернатанта становила - 0,35 МО, а осаду - 1,43 МО, що також вказує на можливість концентрування антигену вірусу сказу.

**Висновок.** Встановлено, що для стимуляції імунної відповіді у тварин та з метою внесення препарату в технологію виготовлення інактивованої

антирабічної вакцини найбільш прийнятним препаратом (технологічність використання, вартість препарату і простота використання) є гідроокис алюмінію.

Доведено, доцільність використання хітозану для концентрування антигену вірусу сказу, що відкриває нові можливості для інтрадермального ін'єктування антирабічних інактивованих вакцин а також для використання як ад'юванта, оскільки активність отриманого матеріалу з 0,1% хітозану практично не поступається препаратам з  $Al(OH)_3$ .

### Список використаних джерел:

1. Эмануэль Н.М. Химическая физика старения и стабилизации полимеров / Н.М. Эмануэль. - М.: Химия, 1982.-С. 282 – 287.

2. Induction of tumoricidal macrophages and production of cytokines by synthetic muramyl dipeptide analogues / Ikuo Saiki, Shinji Saito, Chiharu Fujita, Hideharu Ichida, Joji Iida, Jun Murata, Akira Hasegava, Ichiro Azuma // Vaccine.- 1988.- Vol.6.- P.238 – 244.

3. Новые перспективы в исследовании хитина и хитозана / Албулов А.И., Самуйленко А.Я., Нифантьев Н.Э., Фоменко А.С., Фролова М.Л., Шинкарев С.М. // Материалы 5-й конференции. - М.: ВНИРО, 1999.- С.115 – 117.

4. Большаков И.Н., Связывание бактериального липополисахарида хитозаном при энтеросорбции в эксперименте / И.Н. Большаков, С.М. Насибов // Новые перспективы в исследовании хитина и хитозана. Материалы 5-й конференции.-М.: ВНИРО, 1999.- С.145 – 148.

5. Почему возрастает интерес к препаратам на основе хитозана / Б.А. Комаров, К.А. Трескунов, А.С. Фоменко, А.И. Албулов // Материалы научн. конф. "Место фитотерапии в современной медицине".-Черноголовка.- 1999.- С. 23.

6. Симонова Л.В.Хитин и хитозан / Л.В. Симонова, Л.К. Пашук // Косметика.- Медицина.-№ 1. - 1998.-С. 15.

**Недосеков В.В., Мартинюк О.Г., Козленко Т.Г., Сливко І.А., Сливко В.В. Влияние иммуномодуляторов на антирабический иммунитет**

В статье представлены результаты исследований по изучению возможностей использования разных средств (гидроксал, мидантан, бромантан) для усиления иммунного ответа. Показано, что наиболее технологически обоснованным является применение гидроокись алюминия и хитозана.

Доказана целесообразность использования хитозана для концентрирования антигена вируса бешенства, который открывает новые

**Nedosykov V.V., Martynyuk A.G., Kozlenko T.G., Slyvko I.A., Slyvko V.V. Effect of immunomodulators on rabies immunity**

The article presents the results of studies on the possibility of using various means (hydroxyl midantan, bromantan) to enhance the immune response. Shown that the most technologically justified is the use of aluminum hydroxide and chitosan. chitosan.

Proved the feasibility of using chitosan for the concentration of rabies virus antigen, which opens new possibilities for intradermal injection of inactivated rabies vaccines as wellas for use as adjuvant as

возможности для интрадермального инъектирования антирабических инактивированных вакцин а также для использования как адьюванта, поскольку активность полученного материала с 0,1% хитозаном практически не уступает препаратам с Al (OH) 3.

**Ключевые слова:** иммуномодулятор, иммуногенность, антирабический иммунитет, адьювант, вирус бешенства.

active material obtained with 0.1% chitosan hardly inferior drugs with Al (OH) 3.

**Keywords:** immunomodulator, immunogenicity, rabies immunity adjuvant rabies virus.