

УДК 612.017.1.062:579.841.94:616-097:615.032.311.067

### ВПЛИВ ПЕРОРАЛЬНОГО ВВЕДЕННЯ КАШЛЮКОВИХ АНТИГЕННИХ ПРЕПАРАТІВ НА ДЕРМОНЕКРОТИЧНУ РЕАКЦІЮ У КРОЛІВ

Слисесва І. В., Бабич Є. М., Ждамарова Л. А.,  
Білозерський В. І., Ісаєнко О. Ю., Бобирєва І. В.

ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І.  
Мечникова НАМН України»

Вакцинацію проти кашлюку включено до Національних календарів імунопрофілактики майже усіх країн світу. У довакцинальний період (50-ті роки минулого сторіччя) на території СРСР захворюваність на кашлюк складала 415 на 100 тис. населення, летальність – 5 %. Масова вакцинопрофілактика кашлюку призвела до швидкого зниження захворюваності, котра вже у 70-ті роки знизилась до рівня 5,8-17,7 на 100 тис. при зниженні смертності з 2,6 до 0,01 на 100 тис. [1-5].

У країнах Європи захворюваність на кашлюк складала лише 3-10 випадків на 100 тис. населення, а в Бельгії, Болгарії, Чехії, Ісландії, Люксембурзі цей показник був нижчий – 1,0 на 100 тис. [5, 6].

У теперішній час триразова вакцинація АКДП-вакциною (адсорбована кашлюково-дифтерійно-правцева вакцина), що містить мікробні клітини *B. pertussis* при 82 % охопленні вакцинацією усіх дітей у світі, попереджає щорічно 85 млн. захворювань на кашлюк і близько 700 тис. летального кінцю кашлюку у дітей [6-13]. Але, незважаючи на успіхи вакцинопрофілактики, яка здійснюється у 156 країнах світу, до сих пір кашлюк є серйозною проблемою. За даними ВООЗ, щорічно в світі реєструється 60 млн. випадків кашлюку з високим відсотком легеневих та неврологічних ускладнень та летальністю до 1 % (близько 1 млн. смертей від цього захворювання) [12, 14]. У зв'язку з ростом захворюваності на кашлюк в останні роки в багатьох країнах вирішується питання про введення вакцинопрофілактики кашлюку в старших вікових групах – у підлітків і дорослих [12, 13].

Цільноклітинна кашлюкова вакцина при високій імуногенності є найбільш реактогенним препаратом з вакцин, включених до Національних календарів щеплень. Після її застосування розвиваються місцеві та системні ускладнення, а саме: в 1 з 2-10 випадків реєструється локальне почервоніння, інфільтрат, підвищується температура тіла, спостерігається збудження, реєструються також анафілактичний шок та інші форми алергічних реакцій. Безперервний крик, фебрильні та афебрильні судоми зустрічаються у 1 зі 100 випадків, гіпотонічно-гіпертонічні епізоди – у 1 з 1000-2000 випадків. Місцеві реакції мають тенденцію до збільшення з віком та числом ін'єкцій, саме тому цільноклітинні

вакцини не рекомендовані для імунізації підлітків та дорослих [13].

У зв'язку з побічною дією препаратів, що містять цільноклітинний кашлюковий компонент, в ряді країн (Великобританія, Японія, ФРН, Швеція) у 70-80-ті роки прокотилася хвиля відмов від щеплень проти кашлюку. Це явилось причиною значного підйому захворюваності цією інфекцією з підвищенням кількості важких форм і летальності захворювання [9, 10]. У той же час в ряді країн була здійснена розробка та впровадження у практику охорони здоров'я препарату безклітинної кашлюкової вакцини (БКВ), що замінила у складі АКДП-вакцини цільноклітинний (корпускулярний) кашлюковий компонент. До основних протективних антигенів ацелюлярної вакцини, котрі використовують фірми-виробники, належать: кашлюковий токсин, філаментозний гемаглютинін, пертактин, фімбрії типу 2 і 3, токсин аденілатциклаза, трахеальний цитотоксин, ліпоолігосахариди і ендотоксин *B. pertussis*, які застосовують у різних комбінаціях [5, 13]. Залишається невідомим точне вложення кожного компоненту у протективність вакцини.

В багатолітній динаміці спостерігається зміна провідних антигенних варіантів збудника. Гени пертактину і S1-субодиниці кашлюкового токсину сучасних штамів відрізняються від аналогічних генів штамів, що входять до АКДП-вакцини. Більшість нових штамів відносяться до одного основного серотипу 1.0.3 і мають виражену вірулентність [13, 15]. В останні роки у Франції, Японії, Фінляндії, Австралії знайдено нові штами *B. pertussis*, з котрими вчені пов'язують захворюваність на кашлюк щеплених дітей і який обумовлює до 14 % етіології випадків кашлюку [16].

З 1990 по 1996 рр. проведено 8 польових випробувань 13 БКВ, виготовлених різними виробниками. Одержані в ході цих досліджень результати свідчать про високу ефективність чотириконтентної вакцини CCL-4F фірми Pasteur Merieux Connaught, а також трикомпонентних Infanrix фірми SmithKline Beecham і Acelluvax фірми Chiron Vaccines.

В ряді країн світу АаКДП (тобто вакцина АКДП, що містить безклітинний кашлюковий компонент) було включено до національних календарів щеплень США, Нової Зеландії, Японії і ряду європейських країн як для вакцинації, так і для ревакцинації. Після переходу на вакцинацію БКВ значно зменшилась частота побічних реакцій (температурних, місцевих), і практично зникли неврологічні ускладнення, хоча побічні реакції мають тенденцію до збільшення за частотою та вираженістю і для кожної наступної дози АаКДП [5, 13].

В індустріальних країнах вакцинація забезпечує захист переважно лише до 4-х років, захворюваність на кашлюк у старших дітей, в тому числі імунізованих АаКДП вакциною, підлітків та дорослих поступово збільшується [5, 13]. У зв'язку з цим постає питання про додаткову бустер-дозу безклітинної кашлюкової вакцини у дітей старших 6 років перед

вступом до школи з перспективою зниження захворюваності підлітків.

Щоб зменшити реактогенність бустер ін'єкцій для імунізації підлітків та дорослих рекомендовано використовувати безклітинні вакцини зі зниженою концентрацією антигену.

Але зважаючи на високу вартість ацелюлярної вакцини, ВООЗ рекомендовала продовжувати застосування цілюклітинних вакцин у програмах масової імунізації [5, 13]. Висока ціна безклітинних вакцин та відсутність місцевого виробництва стримує можливість її впровадження і в Україні.

Отже залишається актуальним пошук доступних для практики охорони здоров'я шляхів зниження реактогенності кашлюкової вакцини.

Теоретичним обґрунтуванням наших досліджень стали результати, одержані нами при вивченні десенсибілізуючої дії перорального введення дифтерійного бактеріального антигену на формування шкірної реакції при подальшому внутрішньошкірному його застосуванні [17].

#### Матеріали та методи

В процесі виготовлення антигенних препаратів збудника кашлюку використовувались виробничі штами *Bordetella pertussis* №№ 38, 267 і 475, надані ПАТ «Фармстандарт-Біолік».

Для виготовлення мікробних суспензій використовували 48-, 72-, 144-годинну культуру *Bordetella pertussis*, вирощену на середовищі КВА. Мікробну масу тричі відмивали стерильним фізіологічним розчином (при рН 7,2) від залишків середовища при 6000 об./хв. впродовж 30 хвилин. З осаду готували робочі суспензії *B. pertussis*, які мали оптичну щільність від 0,5 до 2,0 одиниць за шкалою McFarland (McF) приладу Densi-La-Meter. Синхронізацію культур здійснювали одноразовим впливом низької температури в побутовому холодильнику.

Руйнування клітин проводили за допомогою середньочастотного генератора Дезінтеграція мікроорганізмів здійснювалась за допомогою ультразвукового приладу УСУ-0707 (ТУ 3468-001-42369179-03) з частотою 130 кГц і потужністю 9 Вт, сертифікат відповідності № РОСС RU.АЮ66.В10205, свідоцтво від 08.06.2006 № UA 8.003.01.05453-06 в об'ємі 250,0 мл при експозиції 7 годин.

Ступінь руйнування клітин *B. pertussis* контролювали за реєстрацією зменшення оптичної щільності мікробної суспензії за даними приладу Densi-La-Meter; визначення кількості колонієутворюючих одиниць (методом серійних розведень мікробних суспензій: паралельно робили послідовні десятиразові розведення вихідної та опроміненої зависі мікробних культур з подальшим висівом по 0,1 мл на КВА та порівнювали число вирослих колоній в кінцевому розведенні); концентрації загального білку визначалася методом Лоурі (набір фірми «Simko LTD», м. Львів).

Виділення антигенів кашлюку проводилося за схемою, яка принципово передбачала наступні операції: обробку мікробної суспензії ультразвуковим опроміненням; центрифугування; фільтрацію супернатанту; концентрування фільтрату за допомогою випарювання.

Для визначення ефективності перорального застосування протективних антигенів збудника кашлюку для проведення десенсибілізації і попередження розвитку алергічних реакцій необхідно було випробувати різні дози та схеми введення досліджуваних антигенних препаратів кашлюку, які виявляли б десенсибілізуючий вплив.

З цією метою вивчали вплив перорального введення ультразвукових дезінтегрів мікробних клітин кашлюку на ступінь прояву шкірної реакції при їх внутрішньошкірному введенні.

Були взяті 2 групи кролів, котрі включали тварин вагою до 3 кг.

Експерименти на лабораторних тваринах проводились відповідно до вимог і загальних принципів експериментів на тваринах, схвалених І Національним конгресом біоетики (20. 09. 01 р., м. Київ, Україна) та норм біомедичної етики відповідних закону "Про захист тварин від жорстокого поводження" (28. 12. 06 р., м. Київ, Україна) і погоджених з положеннями "Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших дослідних цілях (Страсбург, Франція, 1986).

Усіх кролів імунізували за єдиною схемою: перорально, через тиждень – підшкірно, ще через тиждень – внутрішньошкірно. Різниця була в дозах антигенних препаратів, котрі вводились перорально та підшкірно.

У першій групі тварин, котра складалася з чотирьох кролів, двом було введено по 5,0 мл ультразвукового дезінтеграту мікробних клітин *B. pertussis*, які містили по 26 МОО/мл (Міжнародних оптичних одиниць), а двом тваринам (контроль) по 5,0 мл фізіологічного розчину.

Через тиждень кролям з першої групи підшкірно ввели по 0,5 мл кашлюкової мікробної суспензії, дезінтегрованої ультразвуком, в дозі 10 МОО (щеплювальна доза в АКДП-вакцині) і впродовж трьох днів реєстрували шкірну реакцію.

Ще через тиждень усім кролям підшкірно ввели по 0,2 мл ультразвукового дезінтеграту мікробних клітин кашлюку з подальшим спостереженням за шкірними проявами (табл. 4.1).

Вивчення показників пошкодження нейтрофілів у крові піддослідних кролів під впливом досліджуваних антигенних препаратів здійснювалось за методом В. О. Фрадкіна (1985): до 0,08 мл гепаринізованої крові, взятої в асептичних умовах з вушної вени, кролів додавали 0,02 мл антигенного препарату. 2 години витримували у термостаті при температурі 37 °С. Робили мазки на склі з пограничної зі шаром еритроцитів зони, забарвлення по Романовському [18].

## Результати та обговорення

Дані реєстрації шкірної реакції у кролів з першої групи, імунізованих за однією ж і тією схемою, свідчать, що дослідні тварини на етапі парентеральної (підшкірної) імунізації відреагували значними шкірними проявами, а саме: на другий день після імунізації діаметр первинної реакції був 22-25 мм, на третій день – 23-25 мм, а з четвертого дня в дослідних кролів почалося згасання реакції: 13-17 мм. Контрольні тварини не відреагували на підшкірне введення антигенного препарату (табл. 4.1).

На наступному етапі досліджень при постановці внутрішньошкірної проби реакцію зареє-

стровано у всіх кролів першої групи – і дослідних, і контрольних. Але в дослідних тварин, які одержували антигенний препарат перорально і парентерально перед постановкою шкірної проби, на другий день вона була – 18-22 мм, в контролі – 15-19 мм. Швидкість згасання була однаковою – на 3-й день і в дослідних, і в контрольних тварин діаметр реакції становив 8-10 мм (табл. 4.1).

Одержані результати свідчать, що попереднє пероральне введення дезінтегрованої ультразвуком відмитої кашлюкової мікробної суспензії в підвищеній дозі 26 МОО/мл x 5,0 мл сенсibiliзувало тварин до парентерального введення антигенного препарату.

**Таблиця 4.1 – Результати вивчення дії дезінтеграту мікробних клітин *B. pertussis* при його пероральному введенні з подальшою підшкірною імунізацією на дермонекротичну реакцію у лабораторних тварин**

Група кролів «Біо-лік»	Дата, шлях введення та доза	Дата, доза та шлях введення	Шкірна реакція, мм			Дата, доза та шлях введення	Шкірна реакція, мм		
			11.07	12.07	13.07		17.07	18.07	19.07
	03.07.2012, per os	10.07.2012, 10 МОО/мл, п/ш				17.07.2012, 10 МОО/мл, в/ш			
1	5,0 мл ДЗ, 26 МОО/мл	0,5 мл	22	23	13	0,2 мл	22	18	10
2	5,0 мл ДЗ, 26 МОО/мл,	0,5 мл	25	25	17	0,2 мл	18	12	8
3	5,0 мл фіз. розчину	0,5 мл	немає	немає	немає	0,2 мл	19	20	10
4	5,0 мл фіз. розчину	0,5 мл	немає	немає	немає	0,2 мл	15	15	8

Примітка. ДЗ – ультразвуковий дезінтеграт мікробної суспензії збудника кашлюку

Даний висновок підкріплюється результатами досліджень рівня середньомолекулярних циркулюючих імунних комплексів в рамках вказаного експерименту: через тиждень після підшкірного введення ультразвукового дезінтеграту мікробних клітин збудника кашлюку їх рівень –  $(0,14 \pm 0,09)$  од. – збільшився у 3,4 рази у порівнянні з вихідним –  $(0,041 \pm 0,06)$  од. – на день підшкірного введення антигенного препарату.

Враховуючи дані першого експерименту, було поставлено інший аналогічний дослід на другій групі кролів, але початкову пероральну дозу антигенного препарату зменшили та варіювали від 2 до 15 МОО/мл в 5,0 мл (табл. 4.2). Контрольна тварина одержала фізіологічний розчин. На другому етапі імунізації тварини одержали підшкірно подвійну дозу – 20 МОО/мл в 1,0 мл дезінтеграту мікробних клітин збудника кашлюку (ДЗ).

Виявилось, що первинна реакція почервоніння була дозозалежною: в контрольній тварині, яка одержала фізіологічний розчин, а також в тієї, що

одержала 5,0 мл препарату в мінімальній дозі 2 МОО/мл її взагалі не було. Розміри зони гіперемії в тварин, яким було введено, відповідно по 5, 10 і 15 МОО/мл, на другий день були, відповідно, 15, 20, 25 мм, однак діаметр інфільтрату не відрізнявся – 14-15 мм.

Надалі гіперемія швидко згасала в усіх тварин і на 5-й день зовсім зникла. Щодо інфільтратів, то розвиток реакції був неоднозначним. В кроля № 2 з 5-го дня після підшкірної імунізації почалася друга «хвиля» розвитку реакції: інфільтрат почав збільшуватися і досяг свого максимуму – 13 мм – на 8-й день, а потім почав повільно згасати до 16-го дня. Надалі зареєстровано наступну «хвилю» розвитку реакції: діаметр інфільтрату збільшився до 10 - 17 мм і з 24-го дня різко зменшився до 3 мм. В кролів № 3 і № 4 зникнення інфільтрату відбулося впродовж 3-6 днів з моменту ін'єкції препарату.

На наступному етапі постановки внутрішньошкірної проби імунізованим тваринам привертає увагу факт варіабельності шкірних реакцій в кролів. В

кроля № 3, який перорально одержав 5,0 мл по 5,0 МОО/мл, будь-яка реакція була відсутня. Інші тварини, включно з контрольною, відреагували появою почервоніння та розвитком інфільтратів в зоні ін'єкції.

Але шкірні прояви в контрольній тварині були менш вираженими і динамічно регресували: на 5-й день слідів реакції зовсім не залишилось.

**Таблиця 4.2 – Результати вивчення дії дезінтеграту мікробних клітин *B. pertussis* при його пероральному введенні з подальшою підшкірною імунізацією на дермонекротичну реакцію у лабораторних тварин (внутрішньошкірне введення)**

№№ пп	Дата, доза введення per os	Дата, доза п/ш введення	Розміри шкірної реакції на п/ш введення (M±m), мм	Дата, доза в/ш введення	Розміри шкірної реакції на в/ш введення (M±m), мм
	09.10	16.10, 20 МОО/мл		23.10 розв. до 10 МОО /мл	
1	5,0 мл ДЗ по 2 МОО/мл	1,0 мл ДЗ	г 0 і 0	0,2 мл	г 12,6 ± 1,3 і 8,0 ± 1,1
2	5,0 мл ДЗ по 5 МОО/мл	1,0 мл ДЗ	г 15 ± 0,4 і 9,5 ± 1,0	0,2 мл	г 7,9 ± 1,2 і 11,7 ± 1,3
3	5,0 мл ДЗ по 10 МОО/мл	1,0 мл ДЗ	г 20 ± 0,6 і 11,5 ± 2,9	0,2 мл	г 0 і 0
4	5,0 мл ДЗ по 15 МОО/мл	1,0 мл ДЗ	г 25 ± 0,7 і 15 ± 0,9	0,2 мл	г 9,0 ± 1,5 і 6,3 ± 1,2
5к	5,0 мл фіз. розчину per os	1,0 мл ДЗ	г 0 і 0	0,2 мл	г 11,0 ± 1,3 і 7,3 ± 1,1

Примітка. г – гіперемія, і – інфільтрат

Згасання реакції в кроля № 1 було послідовним і характеризувалось остаточним зникненням на 10-й день після постановки внутрішньошкірної проби. В кроля № 2 розсмоктування інфільтрату відбувалося дуже повільно і супроводжувалось коливаннями діаметру зони реакції, а починаючи з третього тижня і до місяця після ін'єкції, зона інфільтрату стабілізувалася у межах 12 мм. Щодо тварини № 4, то вона продемонструвала стійку реактивну інфільтрацію шкіри без переконливої тенденції до зменшення впродовж 12 днів, але з третього тижня реакція зникла.

Взагалі можна дійти висновку, що у випадку сильного алергену, яким є мікробні клітини кашлюку, сенсibilізація організму відбувається навіть при пероральному його введенні. При цьому відмічається явна дозозалежність первинної реакції почервоніння. Надалі суттєву роль відіграє індивідуальна реактивність тварин, і очевидно, співвідношення дозування антигенного препарату на етапах експерименту, оскільки характер подальшого розвитку реакції у дослідних тварин виявився принципово різним: від відсутності шкірних проявів на пероральну дозу 5,0 мл по 10 МОО/мл в кроля № 3 до тривалої

стійкої реакції на пероральну дозу 5,0 мл по 5 МОО/мл в кроля № 2.

В наступному досліді випробовувався антигенний препарат *B. pertussis*, який становив собою супернатант, звільнений від мікробних клітин шляхом центрифугування ультразвукового дезінтеграту кашлюкової мікробної суспензії.

Схема імунізації була дещо іншою: замість підшкірного введення препарату через тиждень після першого перорального введення вводилася друга пероральна доза, ще через тиждень усім тваринам вводили по 0,2 мл супернатанту внутрішньошкірно. Сумарна доза білку, одержана per os кожною з 5 дослідних тварин, становила 90 мг. Дві контрольні тварини (1к і 2к) двічі перорально одержували по 6,0 мл фізіологічного розчину. Контрольній тварині 3к було поставлено лише внутрішньошкірну пробу. Результати експерименту відображені у таблиці 4.3 (табл. 4.3).

Слід відзначити відсутність інфільтрації після внутрішньошкірного введення препарату СН, що свідчить про значно меншу реактогенність у порівнянні з препаратом ДЗ. У дослідних тварин, яким попередньо двічі per os вводили досліджуваний антигенний препарат, шкірна реакція гіперемії реєструвалася одноразово лише на другий день. У контрольних

тварин почервоніння в середньому було дещо тривалішим: до 3-4-го дня.

Хоча рівень середньомолекулярних циркулюючих імунних комплексів за два тижні після початку імунізації виріс вдвічі: в середньому, з показника

0,04 до 0,09, але, враховуючи повільніше згасання шкірної реакції в контрольних кролів, можна припустити прояв десенсибілізуючої дії даного антигенного препарату СН в обраній пероральній схемі імунізації дослідних тварин.

**Таблиця 4.3 – Результати вивчення впливу антигенного препарату *B. pertussis* (супернатант) при його пероральному введенні на розвиток дермонекротичної реакції у кролів**

Пероральна імунізація : І і ІІ (двічі через тиждень)	В/ш проба – 11.06.12	Шкірна реакція (гіперемія) по днях спостереження (M ± m), мм			
		2-й	3-й	4-й	5-й
Дослід: по 6,0 мл СН	0,2 мл СН	11,0 ± 3,3	-	-	-
Контроль: по 6,0 мл фіз. розчину	0,2 мл СН	14,7 ± 2,7	6,7 ± 2,0	1,0 ± 0,3	-

Примітки: 1- СН - супернатант кашлюкового ультразвукового дезінтеграту; 2- в 1мл СН препарату – 7,5 мг/мл білку; 3- пероральна доза білку – 90 мг.

Результати дослідження впливу препарату СН на нейтрофільні лейкоцити кролів *in vitro* (показник пошкодження нейтрофілів) свідчать про

відсутність у нього сенсibiliзуючої дії ( $t < 2$ ) (табл. 4.4).

**Таблиця 4.4 – Результати дослідження впливу кашлюкового антигенного препарату (СН) на нейтрофільні лейкоцити кролів *in vitro* (показник пошкодження нейтрофілів)**

№№ пп	Дослід				Контроль			
	Всього	Цілі клітини, абс.	пошкоджені, абс.	(M±m), %	Всього	Цілі клітини, абс.	пошкоджені, абс.	(M±m), %
Всього	122	89	33	27,0±4,0	116	93	23	19,8±3,7

### Висновки

- Показано, що попереднє пероральне введення дезінтегрованої ультразвуком відмитої кашлюкової мікробної суспензії в підвищеній дозі 26 МОО/мл x 5,0 мл сенсibiliзувало тварин до парентерального введення антигенного препарату: шкірна реакція гіперемії після підшкірної імунізації досягала 23-25 мм, в той же час в контрольних тварин, які перорально одержували фізіологічний розчин натрію хлориду, почервоніння не було.
- Встановлено, що через тиждень після підшкірного введення ультразвукового дезінтеграту мікробних клітин збудника кашлюку рівень середньомолекулярних циркулюючих імунних комплексів збільшився у 3,4 рази у порівнянні з вихідним рівнем, що є свідченням процесів сенсibiliзації.
- Застосування зменшених пероральних доз ультразвукового дезінтеграту кашлюкових мікробних клітин показало чітку дозозалежність первинної реакції почервоніння на підшкірне введення дезінтеграту: зі зростанням дози (від 2 до 15 МОО/мл) x 5,0 мл збільшувався і діаметр зони гіперемії від 0 до 25 мм. При цьому діаметр інфільтратів був до 15 мм.
- При постановці внутрішньошкірної проби виявилось, що суттєву роль в динаміці шкірної реакції відіграє індивідуальна реактивність тварин, і очевидно, співвідношення дозування антигенного препарату на етапах експерименту, оскільки характер подальшого розвитку реакції у дослідних тварин виявився

принципово різним: від відсутності шкірних проявів після введення пероральної дози 5,0 мл по 10 МОО/мл в кроля № 3 до тривалої реакції інфільтрації після введення пероральної дози 5,0 мл по 5 МОО/мл в кроля № 2.

5. Показано, що безклітинний антигенний препарат СН (супернатант), виявився значно менш реактогенним, ніж дезінтеграт мікробних клітин *B. pertussis*: шкірні реакції на його внутрішньошкірне введення проявлялися лише у вигляді гіперемії, інфільтратів не було ні в контрольних, ані в дослідних тварин.

6. Результати дослідження впливу СН на нейтрофільні лейкоцити кролів *in vitro* (показник пошкодження нейтрофілів) показали відсутність у нього токсичної дії ( $t < 2$  при  $p = 0,05$ ).

7. Визначено, що в дослідних тварин, яких попередньо двічі напоювали безклітинним антигенним препаратом, на другий день в середньому діаметр зони почервоніння був 11 мм, а вже на третій день спостереження ніякої шкірної реакції не було. В контрольних кролів почервоніння в середньому було дещо значнішим (в середньому 15 мм) та згасало на два-три дні повільніше, ніж у тих, яких імунізували перорально, що може свідчити про десенсибілізуючу дію безклітинного антигенного препарату кашлюку в обраній пероральній схемі імунізації.

## References

1. Zakharova, M. C. Problems of epidemiology and immunology of pertussis and parapertussis in USSR [Text] / M. C. Zakharova // M., 1969.- P. 8-22.
2. Infectious Morbidity in Russian Federation in 2002-2003. Collected articles [Electronic resource] // M., 2004.- Access mode :  
[http://www.who.int/gho/publications/world\\_health\\_statistics/EN\\_WHS2012\\_Full.pdf](http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/EN_WHS2012_Full.pdf)
3. Ozeretskovsky, N. A. Pertussis vaccinal prevention – the totals and perspectives [Electronic resource] / N. A. Ozeretskovsky, R. P. Chuprinina // Vaccinal prevention of non-infectious diseases.-2004.- №5 (35).- Access mode:  
<http://medi.ru/DOC/15b3503.htm>
4. Severina, Ye. A. An actual tendency of whooping-cough morbidity, therapy and prevention [Electronic resource] / Ye. A. Severina, A. Ya. Mindlina // Lechatchiy vrach.- 2012.- № 10.- Access mode :  
<http://www.lvrach.ru/2012/10/15435552/>
5. Updated WHO position paper on pertussis vaccines [Electronic resource]//Geneva, Switzerland.-October, 2010.- Access mode :  
[http://www.who.int/immunization/Pertussis\\_position\\_paper\\_slides\\_oct2010.pdf](http://www.who.int/immunization/Pertussis_position_paper_slides_oct2010.pdf)
6. Kanai, K. Japan's experience in pertussis epidemiology and vaccination in the past thirty years [Text] / K. Kanai // Jpn J Med Sci Biol 1980; 33: 107–143.- Access mode : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7206322>
7. Kramarev, S. A. Vaccinal prevention ground [Электронный ресурс] / S. A. Kramarev // Dityachy Likar.- 2010.-№ 2.-С. 40-46.- Access mode :  
<http://d-l.com.ua/articles/61.html>
8. Kwantes, W. J. Bordetella pertussis isolation in general practice: 1977-79 whooping cough epidemic in West Glamorgan [Electronic resource] / W. Kwantes, D. H. Joynson, W. O. Williams // J Hyg (Lond). 1983 April; 90(2): 149–158. - Access mode :  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2134260/>
9. Zakharova, M. C. Acellular pertussis vaccine on the basis of natural antigens complex separated from supernatant of synthetic culture medium [Text] / M. C. Zakharova, T. N. Remova, I. G. Bazhanova et al. // Zhurnal microbiol., 1997. - № 3. -P. 67-70.
10. Edwards, K. M. Pertussis vaccines [Text] / K. M. Edwards, M. D. Decker, E. A. Mortimer // In: Vaccines (Plotkin S.A., Orenstein W.A., ed.). Philadelphia: Saunders, 1990. - P. 293-344.- Access mode :  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2190139>
11. Global Programme on Vaccines. State of the World's Vaccines and Immunization // Geneva, WHO, 2009.- Access mode :  
[http://www.unicef.org/immunization/files/SOWVI\\_full\\_report\\_english\\_LR1.pdf](http://www.unicef.org/immunization/files/SOWVI_full_report_english_LR1.pdf)
12. Pertussis Vaccines: WHO Position Paper. Weekly Epidemiological Record 2010; 85:385-400.- Access mode :  
<http://www.savic.ac.za/images/stories/wer8540pertussis.pdf>
13. Vitek, C. R. Increase in deaths from pertussis among young infants in the United States in the 1990s. [Text] /

- C. R. Vitek, B. Pascual, A. L. Baughman, T. V. Murphy // *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22:628-634.- Access mode :  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12867839>
14. Fradkin, V. A. Allergy diagnostics by blood neutrophils reactions, M., Medcine, 1985.- 175 p.
15. Shinkarev, A. S. Modern strains of Bordetella pertussis: immunobiological properties and vaccine improvement [Text] / A. S. Shinkarev, N. U. Mertsalova, I. K. Mazurova, O. Yu. Bonsova, N. S. Zakharova, M. N. Ozeretskovskaya, E. M. Zaitsev, A. V. Poddubikov, M. V. Bntsyna, J. G. Bazhanova // *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*.- 2007.-№ 4.- P.20-25.
16. New whooping cough strain in US raises questions [Electronic resource] // Associated Press, published February 07, 2013.- Access mode :  
<http://www.foxnews.com/health/2013/02/07/new-whooping-cough-strain-in-us-raises-questions/>
17. Selezneva, T. S. Monitoring of pediatric population's immunostructure to pertussis under the present conditions [Electronic resource] // *Epidemiology and Infectious Diseases*.-M.:Medicine, 2009.-№2.-С.45-48.-Access mode :  
<http://www.fesmu.ru/elib/Article.aspx?id=199511>
18. Babych, Ye. M. Study of influence of previous oral application of diphtheria antigenic preparations on rabbit allergic reaction forming after skin test [Electronic resource] / I. V. Yelyseyeva, Ye. M. Babych, L. A. Zhdamarova, V. I. Belozersky, I. V. Bobireva // *Аннали Мечніковського Інституту*.-2013.-№ 1. - С. 40-43.- Access mode : [www.imiamn.org.ua/journal.htm](http://www.imiamn.org.ua/journal.htm)

## УДК 612.017.1.062:579.871.1:616-097:615.032.311.067 ВЛИЯНИЕ ПЕРОРАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ АНТИГЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ КОКЛЮША НА РАЗВИТИЕ КОЖНОЙ РЕАКЦИИ У КРОЛЕЙ

**Елисеева И. В., Бабич Е. М., Ждмарова Л. А., Белозерский В. И., Исаенко Е. Ю., Бобырева И. В.**  
Изучалось влияние предварительного перорального применения антигенных препаратов возбудителя коклюша, полученных с помощью ультразвуковой дезинтеграции и центрифугирования, на формирование кожной реакции аллергического воспаления при постановке с ними внутрикожной пробы. Полученные результаты свидетельствуют о сенсибилизирующем действии больших доз ультразвукового дезинтеграта коклюшных бактерий и уменьшении первичной реакции гиперемии при снижении пероральной дозы дезинтеграта. Освобожденный от микробных клеток В. pertussis супернатант оказался гораздо менее реактогенным, нетоксичным для нейтрофилов в тесте *in vitro* и показал тенденцию к снижению степени проявления кожной реакции у кролей.  
Ключевые слова: возбудитель коклюша, антигенные препараты, пероральная иммунизация, кожная аллергическая реакция.

УДК 612.017.1.062:579.841.94:616-097:615.032.311.067

**ВПЛИВ ПЕРОРАЛЬНОГО ВВЕДЕННЯ КАШЛЮКОВИХ АНТИГЕННИХ ПРЕПАРАТІВ НА ДЕРМОНЕКРОТИЧНУ РЕАКЦІЮ У КРОЛІВ**

**Єлисеєва І. В., Бабич Є. М., Ждамарова Л. А., Білозерський В. І., Ісаєнко О. Ю., Бобирєва І. В.**

Вивчався вплив попереднього перорального застосування антигенних препаратів збудника кашлюку, одержаних за допомогою ультразвукової дезінтеграції і центрифугування, на формування шкірної реакції алергічного запалення при постановці з ними внутрішньошкірної проби. Одержані результати свідчать про сенсibiliзуючу дію великих доз ультразвукового дезінтеграту кашлюкових бактерій і зменшення первинної реакції гіперемії при зниженні пероральної дози дезінтеграту. Звільнений від мікробних клітин *B. pertussis* супернатант виявився значно менш реактогенним, нетоксичним для нейтрофілів у тесті *in vitro* і показав тенденцію до зниження ступеню проявів шкірної реакції у кролів. Ключові слова: збудник кашлюку, антигенні препарати, пероральна імунізація, шкірна алергічна реакція.

**UDC 612.017.1.062:579.871.1:616-097:615.032.311.067**  
**INFLUENCE OF PREVIOUS ORAL APPLICATION OF PERTUSSIS ANTIGENIC PREPARATIONS ON RABBIT ALLERGIC REACTION FORMING AFTER SKIN TEST**

**Yelyseyeva I. V., Babych Ye. M., Zhdamarova L. A., Belozersky V. I., Isayenko Ye. Yu., Bobireva I. V.**

It's studied an influence of previous oral application of pertussis antigenic preparations, which obtained by the pertussis pathogen ultrasonic disintegration and centrifugation, on allergic inflammation forming after skin test. Obtained results testify to the sensitizing effect of high doses of the *B. pertussis* ultrasonic preparation and decreasing of hyperemia reaction when attenuating of peroral dose of disintegration. Got out from *B. pertussis* microbe cells antigenic preparation appeared considerably less reactogenic, nontoxic for neutrophilic leukocytes according to *in vitro* test and showed a tendency to decreasing manifestation of rabbit skin reactions.

Key words: pertussis pathogen, antigenic preparations, oral immunization, skin allergic reaction.