

Фундаментальні дослідження

УДК: 534.321.9:579.841.94+57.088.3

ВИЗНАЧЕННЯ РЕЖИМІВ ДЕЗІНТЕГРАЦІЇ БАКТЕРІЙ *B. PERTUSSIS* УЛЬТРАЗВУКОМ СЕРЕДНЬОГО ТА ВИСОКОЧАСТОТНОГО ДІАПАЗОНУ ТА БІОХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВИДІЛЕНИХ АНТИГЕНІВ

О.Ю. Ісаєнко¹, Є.М. Бабич¹, Т.В. Горбач², Ю.Л. Волянський¹, А.В. Мартинов¹, Н.В. Кашир¹,
В.С. Антіпов³

¹Державна установа «Інститут мікробіології та імунології імені І.І. Мечникова АМН України»,
Харків, Україна

²Харківський національний медичний університет, Україна

³Державний науковий центр «Харківський Фізико-технічний інститут», Україна

Вивчено вплив застосування ультразвуку в середньо- та високочастотному діапазонах, який призводить до статистично значущого зменшення оптичної щільності та зниження кількості життєздатних клітин *B. pertussis*. Проведено очистку ультразвукових дезінтеграторів центрифугуванням та фільтрацією через мембранні фільтри, що дозволило очистити антигени від низькомолекулярних хімічних структур. Виділено ультразвукові дезінтегратори, які в своєму складі утримують ліпідні фракції та білкові структури з молекулярною вагою від <1 до ≥1000 кДа.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: кашлюк, дезінтеграція, ультразвук, антигени, молекулярна маса

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕЖИМОВ ДЕЗИНТЕГРАЦИИ БАКТЕРИЙ *B. PERTUSSIS* УЛЬТРАЗВУКОМ СРЕДНЕГО И ВЫСОКОЧАСТОТНОГО ДИАПАЗОНА И БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВЫДЕЛЕННЫХ АНТИГЕНОВ

Е.Ю. Исаенко¹, Е.М. Бабич¹, Т.В. Горбач², Ю.Л. Волянський¹, А.В. Мартынов¹, Н.В. Кашир¹,
В.С. Антипов³

¹Государственное учреждение «Институт микробиологии и иммунологии имени И.И. Мечникова АМН Украины», Харьков, Украина

²Харьковский национальный медицинский университет, Украина

³Государственный научный центр «Харьковский Физико-технический институт», Украина

Изучено влияние ультразвука в средне- и высокочастотных диапазонах, которое приводит к статистически значимому снижению оптической плотности и уменьшению количества жизнеспособных клеток *B. pertussis*. Проведена очистка ультразвуковых дезинтеграторов центрифугированием и фильтрацией через мембранные фильтры, что позволило очистить антигены от низкомолекулярных химических структур. Выделены ультразвуковые дезинтеграторы, которые в своем составе содержат липидные фракции и белковые структуры с молекулярной массой от <1 до ≥1000 кДа.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: коклюш, дезинтеграция, ультразвук, антигены, молекулярная масса

DEFINITION OF MODES OF DECOMPOSITION BACTERIA *B. PERTUSSIS* ULTRASOUND OF AN MIDDLE- AND HIGH-FREQUENCY RANGES AND THE BIOCHEMICAL CHARACTERISTIC OF THE ALLOCATED ANTIGENES

E.Yu. Isaenko¹, E.M. Babych¹, T.V. Gorbach², Yu.L. Volyansky¹, A.V. Martynov¹, N.V. Caspur¹,
V.S. Antipov³

¹State establishment «I.I. Mechnykov Institute of Microbiology and Immunology of the Academy of Medical Science of Ukraine», Kharkov, Ukraine

²Kharkiv National Medical University, Ukraine

³State centre of science «Kharkov the Physicotechnical institute», Ukraine

The influence of ultrasound in middle- and high-frequency ranges, which to statistically significant changes of optical density of suspensions and reliable reduction amount of living cells *B. pertussis* is investigated. The clearing of ultrasound disintegrator by centrifugation and filtration through membranian filters is done. These actions have allowed to clear antigens from low-molecular chemical structures. Ultrasonic disintegrators with the lipid fractions in their structure are allocated. Also protein structures with the molecular weight from < 1 up to ≥1000 kDa are allocated.

KEY WORDS: pertussis, decomposition, ultrasound, antigens, molecular weight

Приоритетним напрямком поточного часу є розробка нових більш безпечних вакцинних препаратів, зокрема на основі використання не цілих клітин, а різних їх імуногенних фракцій [1-19]. Одним із підходів у вирішенні цієї проблеми є виділення протективних антигенів і очищення їх від баластних речовин [13-19].

Метод ультразвукової дезінтеграції мікробних клітин *Bordetella pertussis* розцінюється дослідниками як перспективний, мало-руйнівний спосіб отримання нативних антигенних комплексів збудника кашлюку [1-7, 9-11]. В окремих роботах показано, що застосування ультразвукового чинника в частотному діапазоні 45-50 кГц дозволяє виділити антигени, які активно викликають формування гуморального імунітету з високими показниками титрів антитіл [3].

Ультразвукова дезінтеграція збудника кашлюку дозволяє також виділяти із антигенних комплексів їх складові структури, які характеризуються значною серологічною активністю [4].

Позитивні результати були отримані і при застосуванні ультразвуку в частотному діапазоні 1000 кГц [1, 5-9]. Зазначений спосіб одержання антигенів оцінюється дослідниками, як перспективний напрямок виділення клітинних субстанцій у вакцинології [5]. Одержані за допомогою даного фізичного чинника антигени характеризувались протективними ознаками при введенні їх як пероральним, так і парентеральним шляхом [1].

Незважаючи на досягнені успіхи, широке застосування ультразвукової дезінтеграції на сьогодні обмежується тим, що виділені за допомогою ультразвуку антигени не позбавлені токсичних властивостей [8]. Тому в даній роботі передбачено включення до схеми одержання антигенних комплексів додаткових методів очистки, фракціонування з більш повною характеристикою антигенних комплексів за їх молекулярною масою, хімічною структурою, приділяючи значну увагу стандартизації умов виділення клітинних фракцій.

Робота виконувалась в рамках проекту фундаментальної НДР «Біологічна характеристика антигенів збудників дифтерії, кашлюку та туберкульозу, виділених за допомогою фізико-хімічних методів».

Мета роботи – одержання антигенних комплексів із кашлюкового мікроба перспективних для розробки вакцинних препаратів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

В якості тест-об'єктів для виділення антигенів використовували циркулюючі штами *Bordetella pertussis* № 226 і № 303 (надані

Харківською обласною санітарно-епідеміологічною станцією) і виробничі штами *Bordetella pertussis* № 267 і № 475 (надані ЗАТ «Біолік»).

Вилучення антигенних комплексів відбувалося в діапазоні середніх та високих частот ультразвуку при різних режимах. Руйнування мікробних клітин здійснювали на ультразвукових приладах: ТУ 3468–001–42369179–03 з частотою 130 кГц, потужністю 9 Вт та УД-1 з частотою 1,6 мГц, потужністю 3 Вт. Опромінення мікробної завісі кашлюку проводили в об'ємі 250,0 мл впродовж 1, 2, 3, 4, 5 годин при застосуванні середньочастотного ультразвуку та в об'ємі 6,5 мл впродовж 15, 30, 45, 60 хвилин при використанні високочастотного чинника.

Виділення антигенів збудника кашлюку проводили двома способами. Перший із них передбачав фільтрацію ультразвукового дезінтеграту, а потім концентрування та фракціонування антигенного комплексу на окремі антигени за допомогою гель-хроматографії. Другий метод очистки антигенів кашлюку полягав у тому, що отриманий дезінтеграт попередньо ультрацентрифугували, супернатант фільтрували, концентрували та розділяли на окремі фракції гель-хроматографією.

Оптичну щільність кашлюкової суспензії до та після опромінення вимірювали за допомогою приладу Densi-La-Meter (PLIVA – Lachema, Чехія), зареєстрованого в Україні (свідоцтво про державну реєстрацію №5303/2006, дійсне до 18 липня 2011 року). Кашлюкові завісі готували на стерильному фізіологічному розчині (рН 7,2±0,2), доводячи оптичну щільність до 1,0 McFarland. Ступінь руйнування мікроорганізмів контролювали змінням оптичної щільності за McFarland, а також водночас робили послідовні розведення контрольних (початкових) і дослідних (опромінених) суспензій з подальшим висівом по 0,1 мл на казеїново-вугільний агар (КВА). Концентрацію мікробних клітин визначали за кількістю вирослих колоній в кінцевому розведенні суспензій.

Для звільнення розчинного комплексу антигенів від мікробних клітин, які залишились незруйнованими та клітинних оболонок використовували ультрацентрифугування з частотою 12 тис. об./хв. (18000g) при температурі + 4-5°C впродовж 1 години. Фільтрування опромінених суспензій та супернатантів здійснювали через мембрани «Владіпор» МФАС – Б №4 з діаметром пор 0,2 μm, потім їх концентрували за допомогою випарювання.

Подальшу очистку та фракціонування отриманих розчинних антигенних комплексів кашлюкових мікробів проводили мето-

дом гель-хроматографії з використанням обладнання фірми LKB (Швеція). Розподіл антигенів проводили на колонці, заповненою гелем TSK-GEL TOYOPEARL HW-60 Fine. В якості елюенту використовували фосфатно-сольовий буфер такого складу: $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ – 30 ммоль/л, NaCl 100ммоль/л, рН якого дорівнювало 7,4. Швидкість рухливої фази становила 1,7 мл/хв. Буфер в колонку подавався перистальтичним насосом (LKB-2132 Місгорегрех) через петельний інжектор зі зйомними петлями (в аналітичному режимі – 0,1 мл, в препаративному – 1мл). Реєстрацію оптичної щільності елюатів проводили за допомогою ультрафіолетового монітору при довжині хвилі 254 нм. Розділені антигени збирали за допомогою колектора фракцій. Кількість загального білку в антигенних комплексах та окремих антигенних фракціях визначали за методом Лоурі.

Для визначення гомогенності білкового спектру досліджуваних антигенних комплексів кашлюку використовували метод електрофорезу за допомогою біоаналізатору «Agilent 2100».

Статистичну обробку результатів експерименту проводили, використовуючи програмні пакети Microsoft Excel 2003 і «Biostat-4» Оцінювали отримані дані з визначенням середнього значення (M) та його стандартного відхилення ($\pm m$). Достовірність різниць

між групами визначали за допомогою t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Визначення ступеню руйнування кашлюкових мікробів під впливом середньочастотного озвучення проводили за допомогою вимірювання оптичної щільності дезінтеграта на початку експерименту і після закінчення його. Згідно з літературними даними [20] при руйнуванні мікробних клітин спостерігається просвітлення суспензій, тобто зменшення оптичної щільності зразків. Дані експрес-методу доповнювали матеріалами бактеріологічного дослідження за допомогою встановлення кількості життєздатних мікробних клітин у контрольних та дослідних зразках.

Як видно з рис. 1, дезінтегратор з середньою енергетичною характеристикою після двох годин застосування не викликав просвітлення суспензій кашлюку. Трьохгодинна експозиція також не призводила до суттєвих змін показників оптичної щільності. І тільки при тривалості озвучення впродовж чотирьох годин просвітлення суспензій спостерігалось на $40\% \pm 0,5774$ ($p=0,001$) (до $0,6 \text{ McFarland}$ ($1,8 \pm 0,5 \times 10^9$), а після п'ятигодинної експозиції – на $60\% \pm 0,5774$ ($p=0,001$) (до $0,4 \text{ McFarland}$ ($1,2 \pm 0,5 \times 10^9$)).

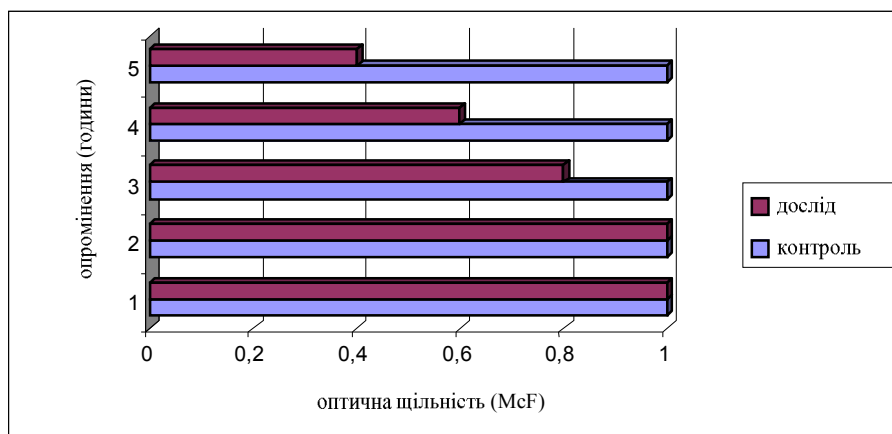


Рис. 1. Оптична щільність суспензій після обробки середньочастотним дезінтегратором.

При підрахунку кількості живих мікробних клітин збудника кашлюку (КУО/мл) в контрольних та дослідних пробах після застосування середньочастотного ультразвуку впродовж трьох годин суттєвої різниці, як і в попередніх дослідях, не спостерігалось (рис. 2). Бактерицидний ефект був досягнутий після чотирьох та п'яти годин озвучення, який проявився в загибелі $46,44 \pm 3,6\%$ ($p=0,002$) і $74,5 \pm 4,58\%$ ($p=0,001$) дезінтегрованих бактерій відповідно.

Наведені дані зміни щільності суспензій

та показники КУО/мл при різних експозиціях дії середньочастотного ультразвуку на *V. pertussis* свідчать, що найбільш виражений дезінтегруючий ефект спостерігається через 5 годин безперервного озвучення біооб'єкта. В такому режимі обробляли мікробну суспензію штаму *V. pertussis* № 267. До дослідів брали фільтрати після упарювання, а інші зразки підлягали додатково центрифугуванню, після чого проводили в обох випадках хроматографічне розподілення дезінтегратів.

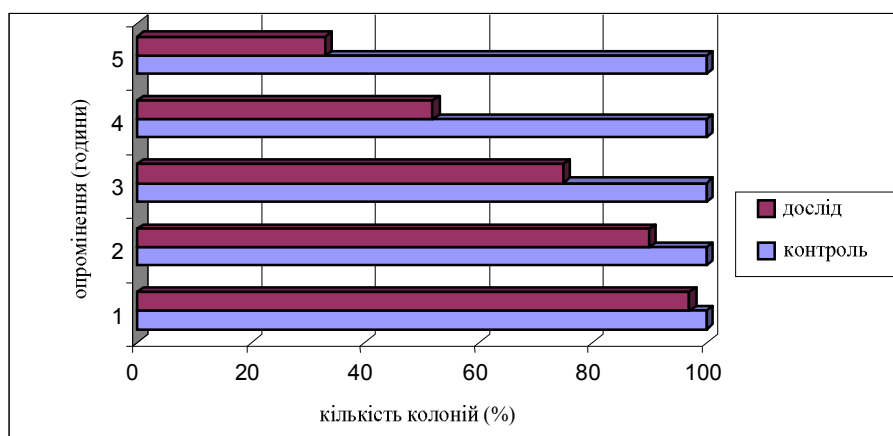


Рис. 2. Кількість життєздатних колоній після обробки середньочастотним дезінтегратором.

Із табл. 1 видно, що зразки до центрифугування утримували білки з молекулярною масою 420 кДа та антигени в межах 1-1,8 кДа, які в фільтрах після примусового осадження не виявлялися. Серед антигенів без додаткового осадження і після нього домінували (65,5-84,9%) низькомолекулярні фракції

з молекулярною масою 8,1-9,1 кДа. Наведені дані свідчать, що озвучення *B. pertussis* у вибраному режимі дозволяє відокремити від мікробних клітин малоімуногенні фракції, що може бути перспективним у технологіях розробки субклітинних препаратів зі зменшеними токсичними властивостями.

Таблиця 1

Фракціонування гелі-хроматографією антигенних комплексів, виділених із ультразвукових дезінтегратів (діапазон середніх частот) кашлюкового мікробу ($M \pm m$)

Штам	Характеристика фракцій			
	дезінтеграт до ультрацентрифугування		дезінтеграт після ультрацентрифугування	
	молекулярна маса, кДа	питома вага фракцій, %	молекулярна маса, кДа	питома вага фракцій, %
№ 267	≥ 1000	1,3 \pm 0,005	≥ 1000	сліди
	420	1,7 \pm 0,005	9,1 \pm 0,03	84,9 \pm 0,06
	8,1	65,5	3,2 \pm 0,02	15,1 \pm 0,05
	3,0 \pm 1,0*	10,2		
	1,8 \pm 0,006	14,3		
	< 1	4,2 \pm 0,006		
	< 1	2,8 \pm 0,005		

Примітки:

- різниця достовірна, $P < 0,01$;

*- різниця достовірна, $P < 0,04$

Закономірність зменшення оптичної щільності суспензій кашлюкових мікроорганізмів після застосування високочастотного чинника (1,6 мГц) спостерігалось, як і у випадку опромінення середніми ультразвуковими хвилями, тільки при більш коротких часових експозиціях. Як видно з рис. 3, максимальне просвітлення оптичної щільності озвучених суспензій спостерігалось при експозиціях застосування ультразвуку впродовж 60 хвилин і більше. За зазначений час дезінтеграції показники просвітлення зменшились на 50% (до 0,5 McFarland ($1,5 \pm 0,5 \times 10^7$)).

Наведені дані підтверджуються результатами визначення бактерицидної дії при обробці мікробних суспензій високочастотними ультразвуковими хвилями (рис. 4). Як і в попередніх дослідях, суттєве зниження (на

74,3 \pm 5,8%; $p = 0,002$) кількості життєздатних мікробних клітин встановлено після озвучення суспензій впродовж однієї години. Виходячи із зазначених вище результатів, руйнування мікробних клітин в подальшому проводили за допомогою впливу ультразвукового чинника у високочастотному діапазоні впродовж однієї години. Для дезінтеграції брали 2 музейних (№№ 303 та 226) і 2 виробничих штами № 267 та № 475.

Після дезінтеграції зазначених вище культур суспензії фільтрували та вивчали хімічну структуру антигенних фракцій. Як видно з табл. 2, всі профільтровані суспензії мали білкові сполуки та ліпідні фракції, концентрація яких залежала від взятих до дослідження штамів. Культура штаму №303 при озвученні виявилась в основному джерелом ліпідних фракцій, в той час, як білкові структури

визначались в мінімальних концентраціях. Дезінтеграти другого ізоляту №226 та промислового штаму №267 хоча і мали більш значні концентрації білка в порівнянні з попереднім штамом, проте їх кількісні показники характеризувалися середніми значеннями. Стосовно ліпідних фракцій варто зазначити, що вони в дезінтегратах утримува-

лись лише в межах $0,2 \pm 0,08 - 0,8 \pm 0,3$ ммоль/л.

Інший промисловий штаму №475 виявився найбільш багатим на білкові сполуки. Концентрація їх у фільтратах перевищувала в 7-8 раз порівняно з концентрацією білків в штамах №226 та №267, в той час як показники ліпідних фракцій у даного штаму були рівні показників вищезазначених фільтратів.

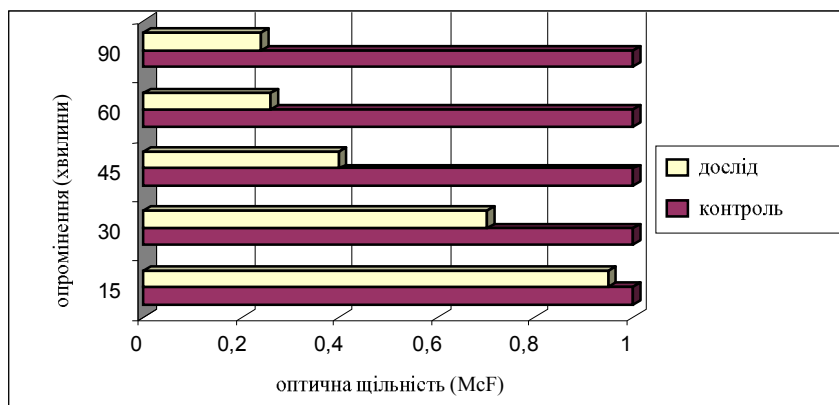


Рис. 3. Оптична щільність суспензії після обробки високочастотним дезінтегратором.

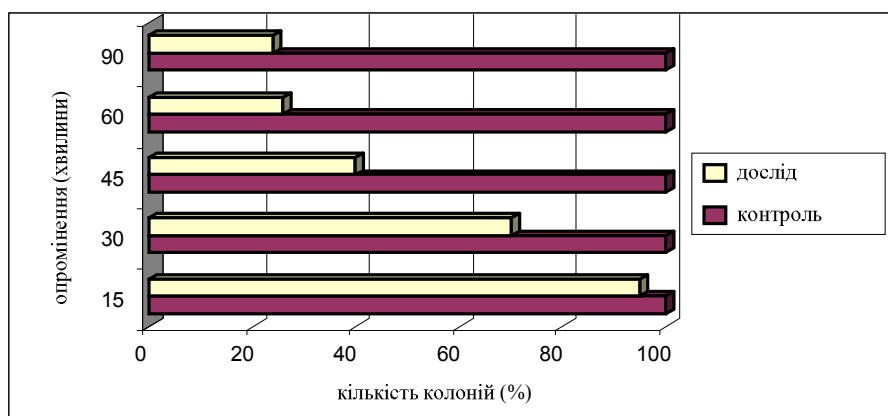


Рис. 4. Кількість життєздатних колоній після обробки високочастотним дезінтегратором.

Концентрація антигенних фракцій, виділених із різних штамів при дезінтеграції ультразвуком у високочастотному діапазоні ($M \pm m$)

Таблиця 2

Номер штаму	Кількість дослідів	Середні показники концентрації антигенів	
		Білок (мкг/мл)	Ліпідні фракції (ммоль/л)
303	5	$6,7 \pm 0,001$	$23,7 \pm 2,9$
226	3	$51,3 \pm 0,004$	$0,2 \pm 0,08$
267	3	$59,3 \pm 0,04$	$0,8 \pm 0,3$
475	3	$415,3 \pm 0,45$	$0,5 \pm 0,2$

У подальшому білкові фракції найбільш інтенсивного продуцента (штаму №475) були охарактеризовані за молекулярною масою. Досліджуваний матеріал розділяли на два зразки. Один із них очищували за допомогою ультрацентрифугування з подальшою фільтрацією, а другий очищували тільки за допомогою фільтрування (табл. 3). Як видно, застосування методу примусового осадження антигенів знижує до слідових значень ни-

зькомолекулярні фракції виділеного білку.

Згідно літературних джерел [11], при центрифугуванні дезінтегратів використовували такі ж параметри, але з меншою часою експозицією та без додаткової фільтрації. В зазначених дослідженнях ультразвукові антигенні комплекси не були фракціоновані на окремі антигенні складові. Таке розподілення та їх характеристика представлено в матеріалах даної роботи.

Фракціонування гель-хроматографією антигенних комплексів, виділених із ультразвукових дезінтегратів (діапазон високих частот) кашлюкового мікробу (M±m)

Штам	Характеристика фракцій			
	дезінтеграт до ультрацентрифугування		дезінтеграт після ультрацентрифугування	
	молекулярна маса, кДа	питома вага фракцій, %	молекулярна маса, кДа	питома вага фракцій, %
№ 475	≥ 1000	5,6±0,006	≥ 1000	9,45
	8,1	80,4±0,006	8,2±0,006	90,55
	2,6±0,04	3,7	3±0,005	сліди
	< 1	6,1±0,03	2	сліди
	< 1	1,6±0,03	1,5	сліди
	< 1	1,3	<1	сліди
	< 1	1,3±0,03		

Примітки:

- різниця достовірна, p<0,01

ВИСНОВКИ

1. При застосуванні ультразвуку в середньочастотному (130кГц) діапазоні (потужність 3 Вт) найбільш виражене зменшення оптичної щільності (на 60%) та кількості (74,5%) нежиттєздатних мікробних клітин *B. pertussis* спостерігається за тривалості озвучення мікробної суспензії впродовж 5 годин.
2. Дезінтеграція мікробної суспензії ультразвуком з частотою 1,6 мГц та потужністю 3 Вт продовж 60 хвилин забезпечує максимальне зниження оптичної щільності (на 50%) та зниження кількості (74,3%) життєздатних клітин *B. Pertussis*.
3. Ультразвукові дезінтеграти утримують білкові структури з молекулярною вагою від <1 до ≥1000 кДа та ліпідні фракції.

4. Введення до технології очистки ультразвукових дезінтегратів центрифугування та фільтрації через мембранні фільтри дозволяє очистити антигени від низькомолекулярних хімічних структур.

Перспективи подальших досліджень в даному напрямку. Планується за допомогою застосування ультразвукової дезінтеграції одержати нативні, хімічно незмінені антигени з протективними та ад'ювантними властивостями, позбавлені токсичних властивостей кашлюкового мікробу. Перспективність таких досліджень полягає в удосконаленні вакцинних препаратів та розробки нових, більш безпечних, імунобіологічних засобів, здійснення яких може бути відтворено за допомогою нативних антигенів ідентичних відповідним клітинним компонентам кашлюку.

ЛІТЕРАТУРА

1. Изучение биологических свойств антигенных комплексов, выделенных различными методами из *B. pertussis* / Бажанова И.Г., Захарова М.С., Мошиашвили И.Я., Шепелева И.Б. / Бактериальные антигены М: 1982. – С. 147 – 152.
2. «Пути повышения эффективности ультразвукового воздействия для выделения коклюшных антигенов и конструирования эритроцитарных диагностикомов»/Н.К.Литвинова Автореф. 1982 г 18 с.
3. К характеристике коклюшных растворимых антигенов, выделенных методом ультразвуковой дезинтеграции / Е.П. Москаленко, Н.К. Литвинова, П.Ф. Вернигора / Актуальные вопросы иммунологии и иммунопатологии (материалы конференции) Ростов – на – Дону 1975. 5 – 10 с.
4. Оптимизация условий получения ультразвукового коклюшного и паракоклюшного растворимых антигенов / Е.П. Москаленко, Л.Н. Чернавская, Н.К. Литвинова / Актуальные вопросы иммунологии и иммунопатологии. Сб. трудов РГМИ. Выпуск II Ростов – на – Дону, 1976г, 8 – 12 с.
5. «Методы получения и экспериментальное изучение основных биологических свойств защитных антигенов коклюшного микроба.»/Захарова М.С., Андреевская Г.Д., Ацерова И.С., Буачидзе И.Д., Зеленский Э.С./Специфическая проф-ка коклюша (Тр. науч. конф. 5-6.03.1958), Москва, 36 – 40 с.
6. «Изменение антигенной активности бордетелл при воздействии ультразвука» / Мошиашвили И.Я. / Журнал микробиологии 1969, № 7, 143 с.
7. Стандартизация коклюшных препаратов с использованием ультразвука / Мошиашвили И.Я. / Стандарты, эталоны и методы контроля бактериальных и вирусных препаратов. Труды ГКИ им. Л.А. Тарасевича. Том 1. 1971 - 30 с.
8. Иммунохимические и биологические свойства агглютиногенов *Bordetella pertussis* / А.П. Амелина Автореферат канд биол наук М 1974. - 14 с.
9. Получение и химическая характеристика агглютиногена со свойствами фактора 3. / Л.В. Жулина, М.С. Захарова, И.П. Багдасарова / ЖМЭИ 1972 г., №3., С. 101-104.
10. Некоторые данные к методике получения корпускулярных коклюшных вакцин при помощи ультразвука / А.П. Гордина, Р.П. Финтикова, Р.З. Хармац / Тезисы докладов итоговой научной конференции по работам, выполненным в 1960 – 61 гг. 1962 г, С 21-22.
11. Серологические и превентивные свойства антигенов коклюшных и паракоклюшных микробов полученных методом ультразвуковой дезинтеграции. / Р.П. Чупринина / Труды Ташкентского научно-исследовательского института вакцин и сывороток Том VIII (22)., Медицина УзССР, Ташкент 1970., - С. 65-67.
12. Characterization of the Filamentous Hemagglutinin-Like Protein FhaS in *Bordetella bronchiseptica* /

- Steven M. Julio and Peggy A. Cotter/Infection and Immunity, August 2005, Vol. 73, No. 8, P. 4960-4971,
13. Patent 000167 WO Title of invention multivalent DTP-polio vaccines / Application No. PCT/ CA1997/ 000472, International Filing Date: 02.07.1997, Publication Date: 08.01.1998.
 14. Patent 034883 WO Acellular pertussis vaccines and methods of preparation thereof / Application No PCT/CA1996/000279, International Filing Date: 02.05.1996, Publication Date: 07/02/1996.
 15. Patent 6696065 United States Acellular pertussis vaccines and methods of preparation thereof /, Application No 08/672530 Inventors: Aventis Pasteur Limited (Toronto, CA), Filing Date 07/02/1996, Publication Date 02/24/2004.
 16. Пат.2194531 Российская Федерация, А61К39/295. / Поливалентные ассоциированные коклюшно-дифтерийно-столбнячно(АКДС)-полиомиелитные вакцины/заявитель и патентообладатель Коннот Лабораториз Лимитед. - № 99101850/14; заявл. 02.07.1997; опубл. 20.12.2002.
 17. Patent 7,479,283 United States/Acellular pertussis vaccine comprising a combination of the 69 kDa and the filamentous haemagglutinin antigens of Bordetella pertussis/Application No 08/450,336, Inventors: Novotny; Pavel (Beckenham, GB), Assignee: UCB Pharma Limited (Slough, Berkshire, GB), January 20, 2009.
 18. Patent 6,210,685 United States / Antigenic preparations and isolation of such preparations / Application No 09/334,690, Inventors: Novotny; Pavel (late of Bromley, GB), Crespo; Juan Antonio Montaraz (Naucaalpan, MX), Ivanyi; Juraj (London, GB), Assignee: Medeva Pharma Limited (Leatherhead, GB), April 3, 2001.
 19. Біологічна характеристика антигенів збудника дифтерії, виділених за допомогою фізико – хімічних методів / Єлісєєва І.В., Бабич Є.М., Ждамарова Л.А., Белозерський В.І., Горбач Т.В., Ковпак С.А., Бобирева І.В / Annals of Mechnicov Institute, 2008, N 3.
 20. Москаленко Е.П. Характеристика коклюшных и паракоклюшных растворимых антигенов, полученных различными методами / Е.П. Москаленко, Л.Н. Чернавская, Л.Е. Хмара, С.И. Ильина, А.А. Гогобердзе, Л.П. Кушнир. // Острые детские инфекции. Сб н. работ.- М: 1975.-Том XVI.-С. 157–160.

© Ісаснко О.Ю., Бабич Є.М., Горбач Т.В., Волянський Ю.Л.,
Мартинов А.В., Каптур Н.В., Антіпов В.С., 2009

УДК: 616-092.18-008.9:661.177

ВПЛИВ СУБТОКСИЧНИХ ДОЗ СКЛАДНИХ ОРГАНІЧНИХ СУМІШЕЙ НА ОСНОВІ ПОЛІОЛІВ НА СТАН ІМУННОЇ СИСТЕМИ ТЕПЛОКРОВНИХ ТВАРИН

О.В. Сіренко, В.І. Жуков¹, Е.О. Кучеренко

Харківська медична академія післядипломної освіти, Україна

¹Харківський національний медичний університет, Україна

Встановлено, що складні органічні суміші на основі поліолів у субтоксичних дозах негативно впливають на проліферацію і диференціацію імунотетентних клітин, гальмують функціональну активність як клітинної, так і гуморальної ланок імунітету, що негативно впливає на стан загальної резистентності організму. Визначене зниження загальної клітинності тимуса і селезінки, зниження функціональної активності спленцитів та пригнічення плазмоцитарної реакції в селезінці та лімфатичних вузлах тварин. Отримані результати свідчать про виснаження компенсаційних та адаптивних механізмів імунного гомеостазу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: клітинний, гуморальний імунітет, поліоли, гомеостаз, імунологічна реактивність

ВЛИЯНИЕ СУБТОКСИЧЕСКИХ ДОЗ СЛОЖНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ СМЕСЕЙ НА ОСНОВЕ ПОЛИОЛОВ НА СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ТЕПЛОКРОВНЫХ ЖИВОТНЫХ

Е.В. Сиренко, В.И. Жуков¹, Э.А. Кучеренко

Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина

¹Харьковский национальный медицинский университет, Украина

Установлено, что сложные органические смеси на основе полиолов в субтоксических дозах негативно влияют на пролиферацию и дифференциацию иммунокомпетентных клеток, тормозят функциональную активность как клеточного, так и гуморального звена иммунитета, что негативно влияет на состояние общей резистентности организма. Выявлено снижение общей клеточности тимуса и селезенки, снижение функциональной активности спленцитов и угнетение плазмоцитарной реакции в селезенке и лимфатических узлах животных. Полученные результаты свидетельствуют об истощении компенсаторных и адаптивных механизмов иммунного гомеостаза.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: клеточный, гуморальный иммунитет, полиолы, гомеостаз, иммунная реактивность