

ВПЛИВ ШТАМІВ ВІРУСУ КЛІЩОВОГО ЕНЦЕФАЛІТУ – ПОТЕНЦІЙНИХ КАНДИДАТІВ ДЛЯ ВИГОТОВЛЕННЯ ІМУНОБІОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТІВ, НА Т-ЗАЛЕЖНИЙ ГУМОРАЛЬНИЙ ІМУНІТЕТ

Козловський М.М., Бек Н.Г., Генік І.Д., Чіпак Н.І.

*Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,
м. Львів, Україна*

Анотація. *Наведено результати досліджень на лабораторних мишах впливу 10 відібраних штамів вірусу кліщового енцефаліту на Т-залежний гуморальний імунітет з метою визначення потенційних кандидатів для виготовлення імунобіологічних препаратів. Встановлено, що досліджувані штами вірусу кліщового енцефаліту в різній мірі володіють певним впливом на Т-залежне антитілоутворення, що характеризувалось пригнічуючим або стимулюючим ефектом в залежності від часових схем імунізації тварин еритроцитами барана, доз вірусів та динаміки антитілогенезу. Найбільш оптимальним кандидатом для виготовлення специфічної вакцини, сироватки чи імуноглобуліну слід вважати штам № 4396, який в порівняльному дослідженні з іншими штамми вірусу кліщового енцефаліту помітно посилював Т-залежну ланку гуморального імунітету з найменшими проявами імунодепресивного ефекту.*

Ключові слова: *віруси кліщового енцефаліту, Т-залежний гуморальний імунітет, дослідження in vivo.*

Вступ. За результатами попередніх багаторічних досліджень, які проводились у Львівському НДІ епідеміології та гігієни МОЗУ, в Україні виявлено чисельні природні вогнища кліщового вірусного енцефаліту, що створює постійну загрозу виникнення нових спалахів цієї особливо небезпечної інфекції, які періодично виникають, що може загострювати проблеми для системи охорони здоров'я, особливо тепер у час ведення в країні воєнних дій [1–4]. Відсутність вітчизняних специфічних імунобіологічних препаратів стосовно даного захворювання зумовлює необхідність всебічного вивчення циркулюючих в Україні штамів збудника вказаної інфекції, як потенційних кандидатів для створення на їх основі ефективних вакцин, імуноглобулінів, діагностикумів тощо. В цьому сенсі важливим є визначення впливу штамів вірусу кліщового енцефаліту на Т-залежний

гуморальний імунітет, найбільш активні з яких спроможні будуть давати за рахунок синтезу специфічних антитіл та активації інших імунних реакцій більш високий терапевтичний ефект при застосування відповідних вакцин, сироваток та імуноглобулінів.

Мета дослідження. Визначити в експериментах *in vivo* здатність циркулюючих в Україні відібраних штамів вірусу кліщового енцефаліту (КЕ) (потенційних кандидатів для виготовлення специфічних імунобіологічних препаратів) впливати на Т-залежний антитілогенез.

Матеріали та методи дослідження. Дослідженню підлягали 8 «актуальних» штамів вірусу КЕ, які в різні періоди, починаючи з 1976 р., були ізольовані від польового та клінічного матеріалів і виступали етіологічними чинниками захворювань людей в Україні. Досліджувані взірці депоновані в Колекцію штамів арбовірусів лабораторії природно-вогнищевих трансмісивних інфекцій НДІ епідеміології та гігієни Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького за №№ 2288, 2809, 3690, 3863, 3905, 4245, 4396, 4678.

Для проведення вказаних досліджень було попередньо проведено накопичення вірусного матеріалу кожного штаму, посилення їх вірулентної активності шляхом 2–3 пасажувань на білих беспородних мишах, в результаті чого отримано по 5,5–6,5 мл вірусвмісної 10% мозкової суспензії з інфекційним титром від 5,8 до 7,3 lg 50/0,2 мл для мишей масою 12–14 г при доочеревинному (д/о) введенні.

Вплив вірусів на Т-залежний гуморальний імунітет оцінювали за здатністю впливати на продукцію у мишей лінії СВА масою 18–20 г сироваткових антитіл до Т-залежного антигену еритроцитів барана (ЕБ), що визначали мікрометодом реакції гемаглютинації [5, 6]. Досліджувані штами вводили одноразово д/о в дозах 2,0 і 0,2 ЛД₅₀/0,2 мл за 5 схемами: за 120, 48 і 2 год до імунізації та через 48 і 120 год. після неї. Імунізацію проводили д/о 15% суспензією свіжоотриманих ЕБ. Забір сироваток крові здійснювали на 7 і 14 добу імунного процесу. Контрольні сироватки отримували від імунізованих неінфікованих тварин. На кожному експериментальну умову використовували по 4 миші. Статистичну обробку результатів визначення антитіл до ЕБ проводили загально прийнятим методом [7].

Дослідження здійснювали в рамках виконання НДР МОЗУ «Вивчити закономірності циркуляції збудників особливо небезпечних природно-вогнищевих інфекцій в Україні» (№ держреєстрації 0102 У 007148) з використанням лабораторних мишей, дотримуючись принципів біоетики, законодавчих норм і вимог згідно з положеннями «Європейської конвенції

про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» [8].

Результати дослідження та їх обговорення. Вивчення впливу вищевказаних штамів вірусу КЕ на гуморальну ланку імунної системи у мишей проводили поетапно в п'яти серіях дослідів по 2–3 штами в кожному дослідженню, з яких відбирали штам з найбільш позитивним впливом на Т-залежне антитілоутворення, котрі сумарно підлягали підсумковому порівняльному дослідженню, в результаті якого визначали найбільш вірогідний кандидат для виготовлення на його основі імунобіологічного препарату.

1. Вивчення впливу штамів вірусу КЕ №№ 2288, 3863, 4678 на Т-залежне антитілоутворення.

На початковій стадії вивчення дії вірусів КЕ на гуморальну ланку імунітету дослідженню підлягали штами №№ 2288, 3863 і 4678, результати якого наведені в табл. 1. Виявлено незначний вплив досліджуваних штамів на антитілоутворення до еритроцитів барана, який в залежності від часових схем імунізації тварин характеризувався пригнічуючим або стилюючим ефектом.

Аналізуючи перші результати вказаного дослідження, проведеного за скороченою схемою стосовно штаму № 2288, можна заключити, що останній суттєво не впливає на процес Т-залежного гуморального імунітету у мишей. Так, титри АТ на ранній стадії антитілогенезу (на 7 добу) при використаних схемах введення вірусу практично не відрізнялись від контрольних показників. Лише в одному випадку, при імунізації мишей через 48 год після інфікування рівень АТ зріс у 2 рази (на один порядок розведення), що є, безумовно, позитивним моментом характеристики даного збудника.

На пізній же стадії імунного процесу (на 14 добу) стабільно спостерігається тенденція незначного пригнічення синтезу АТ, яке за всіх умов введення вірусу не перевищувало 2 разів.

При інфікуванні мишей штамом № 3863 основна дія вірусу на гуморальний Т-залежний імунітет стосувалась раннього його прояву. Так, при введенні цього штаму в двох використаних дозах за 2 год до імунізації титри АТ до ЕБ зростали у 2–3 рази порівняно з контролем і в 3 рази знижувались при інфікуванні тварин за 48 год до імунізації та через 120 год після неї відповідно дозами 0,2 і 2,0 ЛД₅₀/0,2 мл.

На пізню стадію антитілоутворення штам № 3863 проявляв незначний вплив, в основному пригнічуючого характеру, і проявлявся зниженням рівня антитіл лише у 2 рази.

Що стосується впливу на досліджувану ланку антитілогенезу штаму № 4678, то слід відмітити його більш виражену дію на пізню стадію

імунного процесу, що проявлялась його гальмуванням при застосуванні обох доз. Характерним є також те, що цей вплив реєструвався у випадках інфікування тварин лише до імунізації і проявлявся зниженням рівня АТ порівняно з контролем у 2–4 рази.

Дія штаму № 4678 на ранню стадію антитілоутворення проявлялась у меншій мірі і характеризувалась як посиленням імунної відповіді (у 2 рази при інфікуванні до імунізації), так і її гальмуванням (у 2–3 рази) при застосуванні обох доз.

Отримані результати свідчать про певний вплив штамів №№ 3863 і 4245 на гуморальний Т-залежний імунітет. Для першого збудника цей вплив характеризувався, приблизно в однаковій мірі, як стимулюючим, так і пригнічуючим ефектом, натомість для другого – більш вираженим гальмуванням антитілогенезу. З огляду на вищевказане для подальшого порівняльного вивчення слід відібрати як потенційного кандидата для створення препаратів імуноглобуліну та вакцини штам № 3863.

Таблиця 1

Вплив штамів вірусу КЕ №№ 2288, 3863 та 4678 на продукцію сироваткових АТ до еритроцитів барана у мишей лінії СВА

Штам	Доза в ЛД ₅₀	Час введення вірусу по відношенню до імунізації*	Титр АТ в обернених величинах після імунізації ЕБ			
			на 7 добу		на 14 добу	
			Вірус + ЕБ	ЕБ**	Вірус + ЕБ	ЕБ**
1	2	3	4	5	6	7
№ 2288	0,2	-24	320	320	320–640 (-)	640–1280
		+2	160–320	320	640 (-)	1280
		+48	640 (+)	320	320–640 9 0	640–1280
		+120	640	640	640 (-)	1280
№ 3863	2,0	-120	320–640	320	1280	640–1280
		-48	160–320 (-)	320–640	1280–2560 (+)	640–1280
		-2	640–1280 (+)	320–640	1280	640–1280
		+48	320–640	320	320–640 (-)	640–1280
		+120	160 (--)	320–640	640–1280	640–1280
	0,2	-120	640 (+)	320	640	640–1280
		-48	160 (--)	320–640	1280	640–1280
		-2	1280 (++)	320–640	1280	640–1280
		+48	640 (+)	320	320–640 (-)	640–1280
		+120	320	320–640	320–640 (-)	640–1280

Закінчення таблиці 1

1	2	3	4	5	6	7
№ 4678 № 4678 № 4678	2,0	-120	320	160-320	320-640 (--)	1280
		-48	640 (+)	320	320-640 (----)	1280-2560
		-2	320	160-320	640-1280	640-1280
		+48	160 (-)	320	1280	1280-2560
		+120	320	320-640	1280-2560	1280
	0,2	-120	320-640 (+)	160-320	640-1280	1280
		-48	320-640	320	640 (--)	1280-2560
		-2	160-320 (--)	160-320	320-640 (-)	640-1280
		+48	640-1280	320	1280	1280-2560
		+120	640	320-640	1280-2560	1280

Примітки: 1. * – час введення вірусу до (-) і після (+) імунізації поданий в годинах;

2) ** – дані контролю;

3) (+) – збільшення титрів АТ у співвідношенні до контролю (ЕБ) на 1 порядок розведення (у 2 рази);

4) (-) – зменшення титрів АТ у співвідношенні до контролю (ЕБ) на 1 порядок розведення (у 2 рази);

5) (--) – зменшення титрів АТ у співвідношенні до контролю (ЕБ) на 1-2 порядки розведення (у 3 рази);

6) (----) – зменшення титрів АТ у співвідношенні до контролю (ЕБ) на 2 порядки розведення (у 4 рази).

2. Вивчення впливу штамів вірусу КЕ №№ 2809, 3690, 4245 на Т-залежне антитілоутворення

В подальшому вивченню впливу на Т-залежне антитілоутворення підлягали штами вірусу КЕ №№ 2809, 3690, 4245, результати якого наведені в табл. 2.

Таблиця 2

Вплив штамів вірусу КЕ №№ 2809, 3690 та 4245 на продукцію сироваткових АТ до еритроцитів барана у мишей лінії СВА

Штам	Доза в ЛД ₅₀	Час введення ЕБ по відношенню до інфікування*	Титр АТ в обернених величинах після імунізації ЕБ			
			на 7 добу		на 14 добу	
			Вірус +ЕБ	ЕБ	Вірус +ЕБ	ЕБ
1	2	3	4	5	6	7
№ 2809	2,0	-120	160-320	160	640	640-1280
		-48	80-160(-)	160-320	640-1280	1280
		+2	320(++)	80-160	640-1280(---)	2560
		+48	80-160	80-160	320-640(----)	2560
		+120	320(+)	160	1280-2560	1280

Закінчення таблиці 2

1	2	3	4	5	6	7
№ 2809	0,2	-120	40-80(--)	160	320(--)	640-1280
		-48	80-160(-)	160-320	1280	1280
		+2	160-320(+)	80-160	640(----)	2560
		+48	160-320(+)	80-160	640(----)	2560
		+120	320(+)	160	640(-)	1280
№ 4245	1,0	-120	320	320-640	640-1280	1280
		-48	640	640	640(--)	1280-2560
		-2	160(----)	640	н.д.	1280
		+48	640	640	640(-)	1280
		+120	640	320-640	1280	1280
	0,2	-120	320-640	320-640	640-1280	1280
		-48	320(-)	640	640(--)	1280-2560
		-2	160-320(--)	640	320(----)	1280
		+48	640-1280	640	160(-----)	1280
		+120	640	320-640	640(-)	1280
№ 3690	2,0	-48	160-320	160-320	320-640(--)	1280
		+2	160	160-320	1280-2560	1280-2560
		+48	320-640(+)	160-320	640-1280	640-1280
		+120	320	160-320	640-1280	1280

Примітки: 1) * – час введення ЕБ до (-) і після (+) інфікування поданий в годинах;

2) (+) – збільшення титрів АТ у співвідношенні до контролю (ЕБ) на 1 порядок розведення (у 2 рази);

3) (-) – зменшення титрів АТ у співвідношенні до контролю (ЕБ) на 1 порядок розведення (у 2 рази);

4) (--) – зменшення титрів АТ у співвідношенні до контролю (ЕБ) на 1-2 порядки розведення (у 3 рази);

5) (----) – зменшення титрів АТ у співвідношенні до контролю (ЕБ) на 2 порядки розведення (у 4 рази);

6) (-----) – зменшення титрів АТ у співвідношенні до контролю (ЕБ) на 2-3 порядки розведення (у 6 разів);

7) (-----) – зменшення титрів АТ у співвідношенні до контролю (ЕБ) на 3 порядки розведення (у 8 разів); 8. н.д. – не досліджували.

На даному етапі дослідження виявлено певний вплив штамів вірусу КЕ №№ 2809 і 4245 на вказану імунну реакцію, який в більшій степені стосувався пізньої стадії цього процесу, причому при використаних схемах застосування досліджуваних збудників він у 12 випадках із 20 (при решті нейтральних показниках) характеризувався гальмуванням антитілогенезу.

Так, при введенні ЕБ через 2 і 48 год після інфікування мишей штамом № 2809 в дозі 2,0 ЛД₅₀/0,2 мл титри антитіл до ЕБ на 14 добу імунної відповіді знижувались порівняно з контролем відповідно у 3 і 6 разів. Зниження інтенсивності антитілоутворення у 4 рази спостерігалось також при вказаних часових схемах імунізації у випадку інфікування цим вірусом в 10 разів меншою дозою – 0,2 ЛД₅₀/0,2мл. Використання цієї дози вірусу в комплексі з імунізацією за 120 год до інфікування призводило до гальмування «пізнього» антитілоутворення у 3 рази, причому така ж дія цього штаму реєструвалась і на ранній стадії імунного процесу.

Що стосується впливу на ранню стадію антитілогенезу (7 доба спостереження), то штам № 2809 суттєво відрізняється від інших досліджуваних штамів вірусу КЕ. Так, із всіх використаних схем введення цього збудника у 50 % випадків реєструвалось зростання у 2–3 рази рівнів АТ порівняно з контролем, при лише 30 % випадків їх незначного зниження і 20 % нейтрального співвідношення досліді і контролю. Дані результати свідчать про стимулюючий вплив штаму № 2809 на ранній процес Т-залежного антитілоутворення, що позитивно характеризує його з огляду можливого використання останнього в якості потенційного вакцинного штаму.

Аналізуючи дію штаму № 4245 на вибрану реакцію гуморального імунітету слід відмітити його пригнічуючий ефект, що характеризувався на ранній стадії зниженням в 2–3 рази титрів АТ у 3 випадках із 10 при решті нейтральних показників і зниження синтезу АТ в 2–8 разів у 6 випадках із 10 на пізній стадії.

Вираженого впливу на Т-залежний гуморальний імунітет при використаних схемах застосування штаму ВКЕ № 3690 не виявлено. Із даних табл. 2 видно, що цей збудник лише в 1-му випадку збільшував у 2 рази рівень АТ до ЕБ на ранньому етапі їх утворення і у 1-му випадку знижував їх продукцію у 3 рази на пізньому етапі.

Отримані результати вказують на певну відмінність імунобіологічних та інших властивостей штаму № 2809 від решти досліджуваних збудників вірусу КЕ, що слугувало підставою подання в УКРПАТЕНТ заявки для патентування його на корисну модель в якості потенційного кандидата для виготовлення імунобіологічних препаратів, на що отримано відповідний патент № 41118 [9].

3. Вивчення впливу штамів вірусу КЕ №№ 3905, 4396 на Т-залежне антитілоутворення

При вивченні дії штамів вірусу КЕ №№ 3905 і 4396 на гуморальну ланку імунної системи виявлено незначний їх вплив на антитілоутворення до Т-залежного антигену еритроцитів барана, який в залежності від

часових схем імунізації тварин характеризувався пригнічуючим або стимулюючим ефектом (табл. 3).

Таблиця 3

Вплив штамів вірусу КЕ №№ 3905 та 4396 на продукцію сироваткових АТ до еритроцитів барана у мишей лінії СВА

Штам	Доза в ЛД ₅₀	Час введення вірусу по відношенню до імунізації*	Титр АТ в обернених величинах після імунізації ЕБ			
			на 7 добу		на 14 добу	
			Вірус +ЕБ	ЕБ**	Вірус +ЕБ	ЕБ**
1	2	3	4	5	6	7
№ 3905	2,0	-120	80 (---)	320	640 (-)	1280
		-48	160-320	320	320-640 (---)	1280-2560
		-2	80-160 (-)	160-320	1280	1280
		+48	320	320-640	640-1280 (-)	1280-2560
		+120	320-640 (+)	160-320	1280-2560	1280
	0,2	-120	160-320	320	640-1280	1280
		-48	320	320	640 (---)	1280-2560
		-2	80-160 (-)	160-320	640 (-)	1280
		+48	160 (---)	320-640	1280	1280-2560
		+120	320-640 +	160-320	1280-2560	1280
№ 4396	2,0	-120	80 (---)	160-320	320-640	640
		-48	80-160 (-)	160-320	320 (---)	640-1280
		-2	160	160	1280 (+)	640
		+48	320 (+)	160	640-1280	640-1280
		+120	320	160-320	640-1280	640
	0,2	-120	160	160-320	320 (-)	640
		-48	80-160 (-)	160-320	640	640-1280
		-2	320 (+)	160	1280 (+)	640
		+48	320 (+)	160	640-1280	640-1280
		+120	160-320	160-320	1280-2560(++)	640

Примітки: 1) * – час введення вірусу до (-) і після (+) імунізації поданий в годинах;

2) ** – дані контролю;

3) (+) – збільшення титрів АТ у співвідношенні до контролю (ЕБ) на 1 порядок розведення (у 2 рази);

4) (++) – збільшення титрів АТ у співвідношенні до контролю (ЕБ) на 1-2 порядки розведення (у 3 рази);

5) (-) – зменшення титрів АТ у співвідношенні до контролю (ЕБ) на 1 порядок розведення (у 2 рази);

6) (---) – зменшення титрів АТ у співвідношенні до контролю (ЕБ) на 1-2 порядки розведення (у 3 рази);

7) (----) – зменшення титрів АТ у співвідношенні до контролю (ЕБ) на 2 порядки розведення (у 4 рази).

Титри антитіл до ЕБ у дослідних групах максимально відрізнялись від аналогічних контрольних показників у 3 – 4 рази, причому на ранній стадії антитілоутворення (7 доба спостереження) відмічено 12 відхилень від контролю, з яких 5 випадків стимулюючого характеру, а на пізній стадії цього процесу (14 доба спостереження) – 10 відхилень, з яких значна більшість (7 випадків) характеризувалась гальмуванням антитілогенезу.

При інфікуванні мишей штамом № 3905 основна дія вірусу на гуморальний Т-залежний імунітет носила пригнічуючий характер, причому це стосувалась як раннього, так і пізнього його прояву. Так, при введенні цього штаму в дозі 2,0 ЛД₅₀/0,2 мл за 120 год до імунізації титри АТ до ЕБ на 7 добу спостереження знижувались в 4 рази. Такий же результат реєструвався і на 14 добу при аналогічному введенні за 48 год до імунізації. Зниження титрів АТ до ЕБ в 2–3 рази спостерігалось ще 7 разів як при інфікуванні мишей до так і після імунізації.

Незначне посилення антитілоутворення у 2 рази під дією штаму № 3905 було відмічено лише у 2 випадках на ранньому етапі антитілогенезу – при інфікуванні тварин через 120 год після імунізації.

Що стосується впливу на досліджувану ланку антиілогенезу штаму № 4396, то слід відмітити, на відміну від попереднього штаму, більш виражену його стимулюючу дію, що проявлялась як на ранній, так і пізній стадії імунного процесу. Такий ефект реєструвався у 6 випадках при застосуванні обох доз вірусу і характеризувався збільшенням титрів АТ до ЕБ у 2–3 рази. Характерним є також те, що цей вплив спостерігався при інфікуванні тварин в день імунізації або після неї.

Гальмування імунної відповіді під дією штаму № 4396 проявлялось у меншій мірі і реєструвалось при інфікуванні мишей до імунізації у 3 випадках на ранній стадії антитілоутворення та у 2 випадках на пізній стадії. В даній ситуації рівень АТ до ЕБ максимально знижувався у 2 – 3 рази.

Отримані результати свідчать про різний вплив штамів №№№ 3905 і 4396 на гуморальний Т-залежний імунітет. Для першого збудника більш вираженим було гальмування антитілогенезу, натомість для другого цей вплив характеризувався, приблизно в однаковій мірі, як пригнічуючим, так і стимулюючим ефектом. Більш виражена стимулююча дія штаму № 4396 на гуморальну ланку імунітету дає підставу відібрати його для проведення завершального порівняльного дослідження імовірних кандидатів для створення специфічних імунобіологічних препаратів.

4. Порівняльне вивчення впливу відібраних штамів вірусу КЕ №№ 2288, 2809, 3863, 4396 на Т-залежне антитілоутворення

З метою визначення найбільш вірогідного кандидата для виготовлення імунобіологічного препарату для лікування і профілактики КЕ

з врахуванням впливу на Т-залежне антитілоутворення, було проведено підсумкове порівняльне вивчення 4 відібраних штамів вірусу КЕ (№№ 2288, 2809, 3863, 4396), які на попередніх етапах дослідження показали найбільш сприятливий вплив на вказану ланку гуморального імунітету. Дане дослідження, результати якого наведені в табл. 4, здійснювалось на одній партії лабораторних мишей в однакових умовах для всіх вказаних штамів.

Встановлено, що характер дії досліджуваних штамів на Т-залежний антитілогенез в основному збігається з тими показниками, що були отримані при початковому їх вивченню і в великій мірі залежить від часу інфікування по відношенню до імунізації Т-залежним антигеном і дози інфікування. Характерним для всіх штамів є те, що при умові введення вірусу мишам до імунізації їх еритроцитами барана в більшості випадків (62%) спостерігається пригнічення антитілоутворення при відсутності стимуляції цього процесу в цей період, в той час, як стимулюючий ефект реєструвався лише при введенні вірусу після імунізації. Закономірно, також, що імунодепресивний аспект дії штамів КЕ був менш виражений при використанні їх низьких доз і частіше – на ранніх етапах антитілоутворення (7 доба спостереження).

Разом з тим, поряд з зазначеними спільними характеристиками досліджуваних штамів виявлено і ряд відмінностей між ними стосовно впливу на Т-залежне антитілоутворення. Так, встановлено, що штам № 2288 при всіх застосованих схемах введення дози 2,0 ЛД₅₀/0,2 мл у 5 випадках із 10 зумовлював зниження титрів антитіл по відношенню до контролю у 2–4 рази і в 1 випадку – незначне їх зростання – в 2 рази. Аналогічно при введенні дози 0,2 ЛД₅₀/0,2 мл у 4 випадках реєструвалось зниження рівня антитіл у 2–3 рази і у 1 випадку – його зростання у 2 рази. Середньо арифметичний показник зниження титрів антитіл в цій ситуації складав –1,1 при відповідному показникові зростання – +0,2. Виходячи із цих даних коефіцієнт співвідношення рівня антитіл в досліді і контролі становить –0,9.

Слід відмітити виражену здатність даного штаму пригнічувати утворення «ранніх» Т-залежних антитіл (в 3–4 рази) при інфікуванні його в обох дозах за 5 днів до імунізації.

На відміну від попереднього штаму інфікування тварин за вищевказаною схемою штамом № 2809 супроводжувалось суттєвим гальмуванням антитілогенезу (до 4 разів) на пізній стадії цього процесу (14 доба спостереження), що може бути пов'язано зі сповільненням репродуктивного циклу згаданого вірусу [10]. Крім цього, коефіцієнт співвідношення рівня антитіл в досліді і контролі в даному випадку становив –0,7.

Дещо меншу імунодепресивну дію проявляє штамп № 3863. В описаних умовах експерименту останній в 4 моментах викликав зниження рівня антитіл (в 2–3 рази) при інфікуванні високою дозою і в 3 моментах – при інфікуванні низькою дозою, причому зростання рівня антитіл в 2 рази спостерігалось у 4 моментах. Відповідний коефіцієнт співвідношення досліду і контролю при використанні штаму № 3863 складає –0,4.

Серед відібраних штамів найбільш сприятливий вплив на досліджувану імунну реакцію проявив штамп № 4396. Хоча при введенні його мишам до імунізації і спостерігалось зниження титрів антитіл в 2–3 рази порівняно з контролем (всього зафіксовано 5 таких випадків), проте таку ж кількість і у стільки ж разів відбувалось і посилення агнтитілоутворення, причому воно спостерігалось як на ранній, так і пізній стадії імунного процесу. Це засвідчує і нейтральний показник співвідношення титрів антитіл в досліді і контролі, який складає 0, що вказує на загальну індеферентність цього штаму щодо Т-залежного антитілоутворення.

Висновки. Встановлено, що досліджувані штами вірусу КЕ в різній мірі володіють певним впливом на Т-залежне антитілоутворення, що характеризувалась пригнічуючим або стимулюючим ефектом в залежності від часових схем імунізації тварин еритроцитами барана, доз вірусів та динаміки антитілогенезу. При виборі серед кількох штамів з приблизно однаковими основними характеристиками найбільш перспективного кандидата для виготовлення імунобіологічного препарату (вакцини, імуноглобуліну) перевагу необхідно надати штаму № 4396, який здатний помітно посилювати Т-залежну ланку гуморального імунітету з найменшими проявами імунодепресивного ефекту. На даний штамп отримано патент України № 71097 [11].

Крім цього, наведені результати доповнюють аналогічні дані інтерфероніндукуючих досліджень [12] і свідчать про неоднорідність штамів вірусу КЕ, а отже – гетерогенність популяції цих збудників, в тому числі і тих патогенів, що циркулюють в Україні [1,13].

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ:

1. Виноград І.А., Лозинський І.М. Арбовіруси та арбовірусні інфекції у лісостеповій зоні України. *Мікробіол. журнал*. 1998. № 2. С. 49–60.
2. Lozynskiy I., Biletska H., Semenyshyn O., Fedoruk V., Drul O., Ben I., Shulgan A., Morochkovski R. Active natural foci of tick-borne neuroinfections in the North-West region of Ukraine. *Encephalitis* / Edited by Dr. Sergey Tkachev. InTech, 2013. P. 145–160.
3. Білецька Г.В., Лозинський І.М., Курганова І.І. та ін. Атлас «Природно-вогнищеві захворювання, що передаються іксодовими кліщами, у західному регіоні України». Львів, 2012. 32 с.

4. Yurchenko O.O., Dubyna D.O., Vynograd N.O., Rogovsky A.S. Tick-borne encephalitis cases recorded in Ukraine over 1990–2018. *Journal of Travel Medicine*. 2020. Vol. 27 (4). P. 1–3.

5. Иммунологические методы / ред. Г. Фримель. М. : Медицина, 1987. С. 211–219.

6. Пат. 30268 А України, МПК А 61 К 35/78, 39/00. Фітозасіб, стимулюючий антитілогенез / М.М. Козловський, І.А. Виноград, Л.В. Бензель та ін. ; заявник Львівський НДІ епідеміології та гігієни МОЗ України. № 98020750; заявл. 13.02.1998 ; опуб. 15.11.2000. Бюл. № 6-П.

7. Статистические методы исследования в медицине и в здравоохранении / ред. Л.Е. Поляков. Л. : Медицина, 1971. 200 с.

8. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes: European Communities (EC) – Strasbourg, 18.03.1986. *European Treaty Series № 123*.

9. Пат. 41118 України, МПК С 12 N 7/00. Штам вірусу кліщового енцефаліту *Flavivirus encephalitidem ixodicum* № 2809 для виготовлення специфічних імунобіологічних препаратів / І.М. Лозинський, М.М. Козловський, Г.В. Білецька та ін. ; заявник Львівський НДІ епідеміології та гігієни МОЗ України. № u 2008 12570 ; заявл. 27.10.2008 ; опуб. 12.05.2009. Бюл. № 9.

10. Шлезингер М.Дж. Репликация тогавирусов. *Вирусология*. М. : Мир, 1989. С. 343–365.

11. Пат. 71097 Україна, МПК С 12 N 7/00. Штам вірусу кліщового енцефаліту *Flavivirus encephalitidem ixodicum* № 4396 для виготовлення специфічних імунобіологічних препаратів / І.М. Лозинський, М.М. Козловський, Г.В. Білецька та ін. ; заявник і патентовласник ДУ «ЛНДІЕГ МОЗ України». № u 2011 11261 ; заявл. 22.09.2011 ; опубл. 10.07.2012, Бюл. № 13.

12. Козловський М.М. Визначення інтерфероніндукуючої активності штамів вірусу кліщового енцефаліту – потенційних кандидатів для виготовлення імунобіологічних препаратів. *Актуальні проблеми профілактичної медицини*. Львів, 2022. Вип. 25. С. 42–54.

13. Верета Л.А., Воробьева М.С. Природная гетерогенность и целенаправленный отбор штаммов вируса клещевого энцефалита. М. : Медицина, 1990. 123 с.

REFERENCES:

1. Vynograd I.A., Lozynskiy I.M. Arboviruses and arbovirus infections in the forest-steppe zone of Ukraine. *Mikrobiol. Zhurnal*. 1998. № 2. P. 49–60. (in Ukrainian).

2. Lozynskiy I., Biletska H., Semenushyn O., Fedoruk V., Drul O., Ben I., Shulgan A., Morochkovski R. Active natural foci of tick-borne neuroinfections

in the North-West region of Ukraine. Encephalitis / Edited by Dr. Sergey Tkachev. InTech, 2013. P. 145–160.

3. Biletska H.V., Lozynskiy I.M., Kurganova I. et al. Atlas “Natural focal diseases transmitted by ixodid ticks in the western region of Ukraine”. Lviv, 2012. 32 p. (in Ukrainian).

4. Yurchenko O.O., Dubyna D.O., Vynograd N.O., Rogovskyy A.S. Tick-borne encephalitis cases recorded in Ukraine over 1990–2018. *Journal of Travel Medicine*. 2020. Vol. 27 (4). P. 1–3.

5. Immunological methods / Edit. by G.Frimel. M. : Meditsina, 1987. P. 211–219 (in Russian).

6. Pat. 30268 A Ukraine, IPC A61K 35/78, 39/00. A phyto remedial agent that stimulates antibodyogenesis / M.M. Kozlovskiy, I.A. Vynograd, L.V. Benzel et al. ; the applicant Lviv Research Institute of Epidemiology and Hygiene. № 98020750 ; appl. 13.02.1998 ; publ. 15.11.2000. Bul. № 6-II.

7. Statistical research methods in medicine and healthcare / Edit. by L.E. Polyakov. L. : Meditsina, 1971. 200 p. (in Russian).

8. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes: European Communities (EC) – Strasbourg, 18.03.1986. *European Treaty Series № 123*.

9. Pat. 41118 Ukraine, IPC C12N 7/00. Tick-borne encephalitis virus strain *Flavivirus encephalitidem ixodicum* № 2809 for the production of specific immunobiological preparations / I.M. Lozynskiy, M.M. Kozlovskiy, H.V. Biletska et al. ; the applicant Lviv Research Institute of Epidemiology and Hygiene. № u 2008 12570 ; appl. 27.10.2008 ; publ. 12.05.2009. Bul. № 9.

10. Shlezinger M.D. Replication of togaviruses. *Virology*. M. : Mir, 1989. P. 343–365 c. (in Russian).

11. Pat. 71097 Ukraine, IPC C12N 7/00. Tick-borne encephalitis virus strain *Flavivirus encephalitidem ixodicum* № 4396 for the production of specific immunobiological preparations / I.M. Lozynskiy, M.M. Kozlovskiy, H.V. Biletska et al. ; the applicant Lviv Research Institute of Epidemiology and Hygiene. № u 2011 11261 ; appl. 22.09.2011 ; publ. 10.07.2012. Bul. № 13.

12. Kozlovskiy M.M. Determination of interferoninducing activity of tick-borne encephalitis virus strains – potential candidates for the production of immunobiological preparations. *Aktualni problemy profilaktychnoi medytsyny*. Lviv, 2022. V. 25. P. 42–54 (in Ukrainian).

13. Vereta L.A., Vorobyeva M.S. Natural heterogeneity and targeted selection of tick-borne encephalitis virus strains. M. : Meditsina, 1990. 123 p. (in Russian).

THE INFLUENCE OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS STRAINS – POTENTIAL CANDIDATES FOR THE PRODUCTION OF IMMUNOBIOLOGICAL PREPARATIONS ON T-DEPENDENT HUMORAL IMMUNITY

Kozlovskiy M.M., Bek N.G., Genyk I.D., Chipak N.I.

***Abstract.** The results of research on the effect of 10 selected strains of the tick-borne encephalitis virus on T-dependent humoral immunity in laboratory mice are presented in order to identify potential candidates for the production of immunobiological preparations. It was established that the studied strains of the tick-borne encephalitis virus have a certain influence on T-dependent antibody formation, which was characterized by a suppressive or stimulating effect depending on the time schemes of immunization of animals with ram erythrocytes, virus doses and the dynamics of antibody formation. The most optimal candidate for the production of a specific vaccine, serum or immunoglobulin should be considered strain № 4396, which in a comparative study with other strains of the tick-borne encephalitis virus significantly strengthened the T-dependent link of humoral immunity with the least manifestations of the immunosuppressive effect.*

***Key words:** tick-borne encephalitis viruses, T-dependent humoral immunity, in vivo studies.*

Козловський М.М. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6440-0335>,
+38(050)2290675, kmmnauka@gmail.com.

Бек Н.Г. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3828-9554>

Геник І.Д. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8877-1982>

Чіпак Н.І. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5149-2330>