

<https://doi.org/10.32782/2786-9067-2023-25-6>

УДК 615.281.8-097.4:578.8

## **ВИЗНАЧЕННЯ ІНТЕРФЕРОНІНДУКУЮЧОЇ АКТИВНОСТІ ШТАМІВ ВІРУСУ КЛІЩОВОГО ЕНЦЕФАЛІТУ – ПОТЕНЦІЙНИХ КАНДИДАТІВ ДЛЯ ВИГОТОВЛЕННЯ ІМУНОБІОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТІВ**

Козловський М.М.

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

*Анотація. Наведено результати експериментального дослідження на лабораторних мишах інтерфероніндукуючої активності 10 відібраних штамів вірусу кліщового енцефаліту з метою визначення потенційних кандидатів для виготовлення імунобіологічних препаратів. Встановлено, що досліджувані штами вірусу кліщового енцефаліту, в основному, володіють високою інтерфероніндукуючою активністю, яка характеризувалась хвилеподібною динамікою з двома вираженими, як правило, піками накопичення інтерферону в крові мишей. Найбільш оптимальним кандидатом для виготовлення специфічної вакцини, сироватки та імуноглобуліну слід вважати штам № 2288, який в порівняльному дослідженні з іншими штамами проявив найбільш сильну і тривалу інтерфероніндукуючу дію.*

**Ключові слова:** *віруси кліщового енцефаліту, інтерфероніндукуюча активність.*

**Вступ.** Існування в Україні природних вогнищ кліщового вірусного енцефаліту створює постійну загрозу виникнення нових спалахів цієї особливо небезпечної інфекції, які періодично виникають, що особливо небезпечно в сучасний час ведення в країні воєнних дій [1-3]. 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 інтерфероніндукуючих властивостей штамів вірусу кліщового енцефаліту, найбільш активні з яких спроможні будуть давати за рахунок синтезу ендogenous інтерферону більш високий терапевтичний ефект при застосуванні відповідних вакцин, сироваток та імуноглобулінів.

**Мета дослідження.** Визначити в експериментах *in vivo* інтерфероніндукуючу активність циркулюючих в Україні відібраних штамів вірусу кліщового енцефаліту (КЕ) – потенційних кандидатів для виготовлення специфічних імунобіологічних препаратів.

**Матеріали та методи дослідження.** Дослідженню підлягали 10 “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, 4243, 4245, 3863, 4245, 4678, 3905, 4396, 4478.

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

Інтерфероніндукуючі властивості вірусів вивчали шляхом визначення здатності їх стимулювати утворення ендogenous інтерферону (ІФН) згідно вимог і методів, рекомендованих для визначення інтерфероніндукуючої активності [4].

Для цього досліджувані штами вірусів одноразово доочеревинно вводили білим безпородним мишам та мишам лінії СВА масою 12-14 г. Через 6, 12, 18, 24, 30, 48, 72 годин та 5, 7, 10, 11, 12, 15, 20 днів після інфікування у тварин брали кров, використавши на кожну експериментальну умову по 4 миші.

В одержаних пробах сироваток крові визначали рівень ІФН мікрометодом по затримці цитопатичної дії (ЦПД) тест-вірусу енцефаломіокардиту мишей (ЕМС) у культурі клітин мишиних фібробластів лінії L-929, вирощених у 96-ямочних панелях. За одиницю (титр) ІФН приймали число, зворотне його найбільшому розведенню, що викликає не менше ніж у 50 % клітин затримку ЦПД вказаного вірусу у дозі 100 ЦПД50/0,2 мл.

Дослідження здійснювали в рамках виконання НДР МОЗУ «Вивчити закономірності циркуляції збудників особливо небезпечних природно-вогнищевих інфекцій в Україні» (№ держреєстрації 0102 U 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» [5].

**Результати дослідження та їх обговорення.** Вивчення інтерфероніндукуючих властивостей вищевказаних штамів вірусу КЕ проводили поетапно в п'яти серіях дослідів по 2-3 штами в кожному дослідженні, з яких відбирали штаму з найбільш вираженою інтерфероніндукуючою активністю, котрі сумарно підлягали підсумковому порівняльному дослідженню, в результаті якого визначали найбільш вірогідний кандидат для виготовлення на його основі імунобіологічного препарату.

1. Інтерфероніндукуючі властивості штамів вірусу КЕ №№ 2288, 4243.

В першій серії дослідження вивчали інтерфероніндукуючі властивості штамів №№ 2288 і 4243, результати якого наведені в табл. 1. Встановлено, що дані штами володіють

значною інтерфероніндукуючою активністю з двома вираженими піками накопичення ІФН в крові: 5120 і 320-640 од/мл відповідно через 24 години і 11 днів після зараження дозою 10 ЛД50/0,2 мл. Динаміка інтерфероноутворення узгоджується із двохвильовим характером вірусемії при KE і, очевидно, головним чином нею обумовлена [6,7].

Таблиця 1

Інтерфероніндукуюча активність штамів №№ 2288 та 4243  
вірусу кліщового енцефаліту

| Штами  | Доза в ЛД50 | Титри ІФН (в од/мл) в крові мишей через: |           |         |         |         |
|--------|-------------|--|-----------|---------|---------|---------|
|        |             | 5 год                                    | 24 год.   | 48 год. | 72 год. | 96 год. |
| № 2288 | 10          | 10-20                                    | 5120      | 320     | 80-160  | 80-160  |
|        | 0,2         | <10                                      | 1280-2560 | 320     | 160-320 | 160     |
| № 4243 | 10          | 20                                       | 5120      | 160     | 80-160  | 10-20   |
|        | 0,2         | <10                                      | 160       | 640     | 160     | 40-80   |

  

| Штами  | Доза в ЛД50 | Титри ІФН (в од/мл) в крові мишей через: |         |         |         |
|--------|-------------|--|---------|---------|---------|
|        |             | 8 днів                                   | 11 днів | 15 днів | 20 днів |
| № 2288 | 10          | 40                                       | 160-320 | 20-40   | н.д.    |
|        | 0,2         | 40                                       | 320     | <10     | <10     |
| № 4243 | 10          | 40-80                                    | 80      | <10     | 10      |
|        | 0,2         | <10                                      | 640     | <10     | <10     |

Примітка: н.д. - не досліджували.

Слід відзначити, що 1-а фаза високої продукції ІФН (5120-160 од/мл) була більш тривала у часі при інфікуванні штамом № 2288 (з 24 до 96 год.), тоді як при інфікуванні штамом № 4243 вона спостерігалась з 24 до 72 год..

Введення нижчої у 50 разів дози штаму № 2288 (0,2 ЛД50/0,2 мл) викликає незначне (в 3 рази) зниження концентрації ІФН на 1-му піку його активності і приблизно такі ж рівні ІФН, як і при введенні високої дози (10 ЛД50/0,2мл) на 2-му піку його індукції – 160-320 од/мл.

У випадку із штамом № 4243 інфікування низькою дозою вірусу спричиняло віддалення на 24 год. 1-го піку індукції ІФН, інтенсивність якого при цьому знижувалась у 8 разів – до 640, в той час як на 2-ій фазі інтерфероноутворення вона була у стільки ж разів вищою у порівнянні із високою дозою – відповідно 640 і 80 од/мл.

Отримані результати свідчать про високу здатність досліджуваних штамів вірусу KE стимулювати синтез ендogenous інтерферону та певну відмінність між ними у проявах цього процесу. За динамікою та інтенсивністю інтерфероноутворення більшою активністю виділяється штам № 2288.

2. Інтерфероніндукуючі властивості штамів вірусу KE №№ 2809, 3690.

На другому етапі вивчення інтерфероніндукуючих властивостей вірусів КЕ дослідженню підлягали штами №№ 2809 і 3690, результати якого наведені в табл. 2.

Таблиця 2

Інтерфероніндукуюча активність штамів №№ 2809 та 3690  
вірусу кліщового енцефаліту

| Штами  | Доза в ЛД50 | Титри ІФН (в од/мл) в крові мишей через: |        |           |         |        |         |         |
|--------|-------------|--|--------|-----------|---------|--------|---------|---------|
|        |             | 6 год                                    | 12 год | 18 год    | 24 год. | 30 год | 48 год. | 72 год. |
| 1      | 2           | 3  | 4      | 5         | 6       | 7      | 8       | 9       |
| № 2809 | 10          | 20                                       | 80     | 320       | 320-640 | 40-80  | 10      | 160-320 |
|        | 0,2         | <10                                      | <10    | 10-20     | 20-40   | 10-20  | 40-80   | 10-20   |
| № 3690 | 10          | 10-20                                    | н.д.   | 1280-2560 | 1280    | 320    | 160-320 | 40-80   |
|        | 0,2         | <10                                      | н.д.   | 320-640   | 160-320 | 640    | 80      | 40      |

  

| Штами  | Доза в ЛД50 | Титри ІФН (в од/мл) в крові мишей через: |        |         |         |         |         |         |
|--------|-------------|--|--------|---------|---------|---------|---------|---------|
|        |             | 5 днів                                   | 7 днів | 10 днів | 11 днів | 12 днів | 15 днів | 20 днів |
| № 2809 | 10          | 160                                      | 10     | 80-160  | 10-20   | 160     | <10     | н.д.    |
|        | 0,2         | 80                                       | 40     | 160     | 10-20   | 160     | <10     | <10     |
| № 3690 | 10          | 10-20                                    | 40     | н.д.    | н.д.    | н.д.    | н.д.    | н.д.    |
|        | 0,2         | 80                                       | <10    | <10     | <10     | <10     | <10     | <10     |

Примітка: н.д. - не досліджували.

Встановлено, що штами №№ 2809 і 3690 володіють високою інтерфероніндукуючою активністю, яка у останнього сягала в 3-4 разів вищих показників. Так, при інфікуванні тварин дозою 10 ЛД50/0,2 мл штаму № 2809 максимальну індукцію ІФН (в межах 320-640 од/мл) викликав через 18-24 год. Аналогічна інтерферонова відповідь штаму № 3690 у цей період становила 1280-2560 од/мл.

Виявлені деякі відмінності між даними штамми і щодо динаміки інтерфероноутворення. Накопичення ІФН в крові, зумовлене дозою 10 ЛД50/0,2 мл штаму № 2809, відбувалось хвилеподібно з кількома вираженими піками. Після 1-го максимального підйому синтезу ІФН через 18-24 год реєструвався його різкий спад до 10 од/мл через 48 год з подальшими новими його підйомами через 72 год та 5, 10 і 12 днів, коли титри ендogenous ІФН реєструвались в межах 160-320 од/мл.

Введення мишам в 50 разів меншої дози (0,2 ЛД50/0,2 мл) штаму № 2809 викликало на перших порах (з 18 до 72 год) адекватну незначну продукцію ІФН, що коливалась в межах 10-40 од/мл, однак в подальшому через 5 і, особливо, 10 і 12 днів рівні циркулюючого ІФН суттєво зростали і досягали тих показників, що і при введенні високої дози - 80 – 160 од/мл.

Відмінна картина щодо інтерфероноутворення спостерігалась при інфікуванні тварин штамом № 3690. Після максимального піку накопичення ІФН в крові, що припадав, як і для штаму № 2809, на 18-24 год після введення дози 10 ЛД50/0,2 мл, відбувалось поступове, без значних перепадів, зниження вмісту сироваткового ІФН з останнім виявленням незначних його концентрацій (40 од/мл) через 7 днів.

При введенні низької дози (0,2 ЛД50/0,2 мл) штаму № 3690 перша фаза активного інтерфероногенезу характеризувалась, на противагу штаму № 2809, доволі високими титрами ІФН (160-640 од/мл), яка була більш триваліша в часі (до 30 год), однак в подальшому, характерних для штаму № 2809 піків індукції ІФН, не спостерігалось, а при введенні високої дози (10 ЛД50/0,2 мл) виявити їх було неможливо через специфічну загибель тварин на пізніх етапах спостереження..

Отримані результати свідчать про високу здатність досліджуваних штамів вірусу КЕ стимулювати синтез ендogenous інтерферону та певну відмінність між ними у проявах цього процесу. За інтенсивністю інтерфероноутворення більшою активністю виділяється штам № 3690, однак за тривалістю його - штам № 2809.

### 3. Інтерфероніндукуючі властивості штамів вірусу КЕ №№ 3863, 4245, 4678.

Вивчення інтерфероніндукуючих властивостей штамів вірусу КЕ №№ 3863, 4245, 4678, результати якого наведені в табл. 3, показало, що вказані штами також володіють високою здатністю індукувати інтерферон з характерною хвилеподібною динамікою.

Слід відзначити подібність проявів індукції інтерфероноутворення у часовому вимірі під дією досліджуваних штамів, що виражалась у реєстрації максимальної концентрації “раннього” ендogenous інтерферону через 24-30 годин після інфікування та “пізнього” – на 10-11 день перебігу експериментальної інфекції. Відмінність інтерфероніндукуючих властивостей вказаних збудників полягала у різному ступені інтенсивності стимуляції інтерферонові системи і тривалості циркуляції високих рівнів інтерферону в крові мишей.

Так, при інфікуванні тварин дозою 10 ЛД50/0,2 мл штам № 4245 максимальну індукцію ІФН в кількості 1280 од/мл викликав через -24 год., яка майже на такому ж рівні тривала до 30 год. з наступним спадом інтенсивності інтерфероноутворення до 40-80 од/мл через 48-72 год. Незначні прояви продукції інтерферону в межах 10-20 од/мл спостерігались ще на 5 – 7 дні розвитку інфекції, які однак на 10 день перейшли у різкий підйом інтерфероноутворення – до 320 од/мл. Другий пік накопичення інтерферону тривав добу із значно нижчими в подальшому титрами ІФН і вже на 12 день перебігу експериментального КЕ спостерігались лише сліди біологічної активності (10 од/мл) в крові мишей.

Використання штаму № 4245 у 50 разів нижчій дозі (0,2 ЛД50/0,2 мл) викликає віддалення на 24 год. піків індукції ІФН, причому інтенсивність 1-го піку при цьому знижувалась у 4 рази (до 320 од/мл) і була приблизно такою ж (160-320 од/мл) на 2-ій фазі інтерференоутворення.

Таблиця 3

Інтерфероніндукуюча активність штамів №№ 3863, 4245 та 4678  
вірусу кліщового енцефаліту

| Штами  | Доза в ЛД50 | Титри ІФН (в од/мл) в крові мишей через: |        |         |          |          |         |         |
|--------|-------------|--|--------|---------|----------|----------|---------|---------|
|        |             | 6 год                                    | 12 год | 18 год  | 24 год.  | 30 год   | 48 год. | 72 год. |
| 1      | 2           | 3  | 4      | 5       | 6        | 7        | 8       | 9       |
| № 3863 | 5           | 10                                       | 20     | 160     | 640-1280 | 160      | 40      | 20-40   |
|        | 0,2         | <10                                      | <10    | 20      | 40-80    | 80       | 80      | 10-20   |
| № 4245 | 10          | 20                                       | 40-80  | 160     | 1280     | 640-1280 | 40-80   | 80      |
|        | 0,2         | <10                                      | <10    | 10-20   | 40       | 40-80    | 320     | 80      |
| № 4678 | 5           | <10                                      | 20     | 80      | 320-640  | 320      | 160     | 40-80   |
|        | 0,2         | н.д.                                     | <10    | 10      | 40-80    | 80-160   | 160     | 40-80   |
| Штами  | Доза в ЛД50 | Титри ІФН (в од/мл) в крові мишей через: |        |         |          |          |         |         |
|        |             | 5 днів                                   | 7 днів | 10 днів | 11 днів  | 12 днів  | 15 днів | 20 днів |
| № 3863 | 5           | 20                                       | 10     | 160     | 80       | 20       | <10     | <10     |
|        | 0,2         | <10                                      | <10    | 40-80   | 80       | 10       | <10     | <10     |
| № 4245 | 10          | 20-40                                    | 10     | 320     | 40-80    | 10       | н.д.    | н.д.    |
|        | 0,2         | 10                                       | 20     | 40      | 160-320  | 80       | <10     | <10     |
| № 4678 | 5           | 20                                       | <10    | 20      | 80       | 10       | <10     | н.д.    |
|        | 0,2         | 10                                       | <10    | <10     | 40-80    | 10-20    | <10     | <10     |

Примітка: н.д. - не досліджували.

Якщо дещо вищу інтерфероніндукуючу активність даного вірусу, порівняно з іншими досліджуваними штамми, можна пояснити більшою дозою введення (10 ЛД50/0,2 мл), внаслідок чого спостерігалась, і більша летальність експериментальних тварин, через що - неможливо було дослідити інтерференоутворення на пізніх стадіях розвитку інфекції, то значна індукція ІФН при застосуванні його в нижчій дозі (0,2 ЛД50/0,2 мл) є позитивним моментом для виготовлення із цього штаму відповідного вакцинного препарату.

Аналогічна картина спостерігалась і при введенні мишам штамів №№ 3863 і 4678: максимальна інтерференова відповідь на введення дози 5 ЛД50/0,2 мл становила на 1-му піку (через 24 год.), відповідно, 640-1280 і 320-640 од/мл, інтенсивність якої поступово знижувалась до 20 од/мл на 5 день інфекції. Другий пік накопичення ІФН в крові реєструвався відповідно через 10 і 11 днів на рівні 160 і 80 од/мл.

При введенні низької дози 0,2 ЛД50/0,2 мл вищевказаних штамів характер інтерференоутворення в часовому вимірі майже не змінювався. Лише в кількісному відношенні максимальні рівні ІФН у цьому випадку суттєво знижувались на першому етапі інтерферорогенезу для штаму № 3863 – у 12 разів до 80 од/мл. (для штаму № 4678 зниження відбувалось у 3 рази – до 160 од/мл). На другому етапі інтерферорогенезу (10 – 11 дні розвитку інфекції) дані показники суттєво не змінювались: зниження рівнів ІФН складало 1,5 - 2 рази.

Наведені результати свідчать про виражену здатність досліджуваних штамів вірусу КЕ стимулювати синтез ендogenous інтерферону та певну подібність між ними у проявах цього процесу. За інтенсивністю інтерференоутворення дещо більшою активністю виділяється штам № 4245, однак за тривалістю його всі вони практично однакові.

#### 4. Інтерфероніндукуючі властивості штамів вірусу КЕ №№ 3905, 4396, 4478.

Результати вивчення інтерфероніндукуючих властивостей штамів вірусу КЕ №№ 3905, 4396, 4478 наведені в табл. 4. Встановлено, що всі вони володіють високою інтерфероніндукуючою активністю, яка характеризувалась вже знайомою з попередніх досліджень хвилеподібною динамікою з двома вираженими піками накопичення інтерферону в крові.

Серед досліджуваних штамів слід виділити 2 штами (№№ 4396 і 4478), що характеризуються подібністю проявів індукції інтерференоутворення у часовому вимірі, та окремо штам № 3905, що суттєво відрізняється від них у даному відношенні. Подібність перших двох штамів виражалась у реєстрації максимальної концентрації “раннього” ендogenous інтерферону через 24-30 годин після інфікування та “пізнього” – на 11 день перебігу інфекції. Відмінність між ними полягала лише у різній степені інтенсивності стимуляції інтерференової системи: більшу активність проявляв штам № 4396.

Натомість для штаму № 3905 перший пік активності інтерференоутворення припадав на 12 год, що вперше спостерігається серед досліджуваних збудників, а другий - на 12 день інфекційного процесу.

Так, із даних табл. 4. видно, що при інфікуванні тварин дозою 5 ЛД50/0,2 мл штам № 3905 максимальну індукцію ІФН в кількості 320 од/мл викликав через 12 год., яка майже на такому ж рівні тривала до 18 год. з наступним поступовим спадом інтенсивності

інтерфероноутворення до 80 од/мл через 48 год. Незначні прояви продукції інтерферону в межах 10-20 од/мл спостерігались ще на 3 – 5 дні розвитку інфекції, а з 7 до 11 дня цього процесу наявність інтерферону в крові мишей не реєструвалась. Лише на 12 день після інфікування вірусом КЕ спостерігався незначний підйом інтерфероноутворення – до 20-40 од/мл., який тривав лише одну добу.

Таблиця 4

Інтерфероніндукуюча активність штамів №№ 3905, 4396 та 4478  
вірусу кліщового енцефаліту

| Штами  | Доза в ЛД50 | Титри ІФН (в од/мл) в крові мишей через: |        |         |          |         |         |         |
|--------|-------------|--|--------|---------|----------|---------|---------|---------|
|        |             | 6 год                                    | 12 год | 18 год  | 24 год.  | 30 год  | 48 год. | 72 год. |
| 1      | 2           | 3  | 4      | 5       | 6        | 7       | 8       | 9       |
| № 3905 | 5           | 10                                       | 320    | 160-320 | 160      | 80-160  | 80      | 20      |
|        | 0,2         | <10                                      | <10    | <10     | 20       | 20-40   | 80      | 80      |
| № 4396 | 5           | <10                                      | 20-40  | 160-320 | 640-1280 | 1280    | 160     | 80      |
|        | 0,2         | <10                                      | <10    | 40      | 40-80    | 160     | 160-320 | 40-80   |
| № 4478 | 5           | <10                                      | 10     | 80-160  | 320-640  | 160-320 | 160     | 40      |
|        | 0,2         | <10                                      | <10    | 10      | 40-80    | 80-160  | 160     | 40-80   |
| Штами  | Доза в ЛД50 | Титри ІФН (в од/мл) в крові мишей через: |        |         |          |         |         |         |
|        |             | 5 днів                                   | 7 днів | 10 днів | 11 днів  | 12 днів | 15 днів | 20 днів |
| № 3905 | 5           | 10                                       | <10    | <10     | <10      | 20      | <10     | <10     |
|        | 0,2         | 20-40                                    | 10     | 40      | 10       | 20-40   | <10     | <10     |
| № 4396 | 5           | 20                                       | <10    | <10     | 80-160   | 10      | <10     | н.д.    |
|        | 0,2         | 10                                       | <10    | <10     | 20       | 80      | <10     | <10     |
| № 4478 | 5           | 10-20                                    | <10    | 20      | 40-80    | <10     | <10     | <10     |
|        | 0,2         | 10                                       | <10    | <10     | 10       | 40      | <10     | <10     |

Примітка: н.д. - не досліджували.

Використання штаму № 3905 у 25 разів нижчій дозі (0,2 ЛД50/0,2 мл) викликає віддалення на 30 – 60 годин 1-го піку індукції ІФН, причому інтенсивність його при цьому знижувалась у 4 рази (до 80 од/мл), і спричиняє другу фазу інтерфероноутворення на тому ж рівні, що і при дозі 5 ЛД50/0,2 мл, однак тривала впродовж 3-х діб – з 10 до 12 дня розвитку інфекції.



Інша картина спостерігалась при введенні мишам штамів №№ 4396 і 4478: максимальна інтерферонова відповідь на введення дози 5 ЛД<sub>50</sub>/0,2 мл припадала на 24 – 30 год після інфікування (1-й пік інтерфероноутворення) і становила відповідно 640-1280 і 320-640 од/мл, інтенсивність якої плавно знижувалась до 10 – 20 од/мл на 5 день інфекції. Другий пік накопичення ІФН в крові тварин реєструвався відповідно через 11 днів на рівні 80 – 160 і 40 – 80 од/мл.

При введенні низької дози 0,2 ЛД<sub>50</sub>/0,2 мл вищевказаних штамів відбувалось зрозуміле зниження (в 3-6 разів) інтенсивності продукції ІФН, а також характерне зміщення на 24 год піків інтерфероноутворення, що можна пояснити більш тривалим періодом максимального накопичення вірусу в організмі мишей порівняно з введенням їм в 25 раз більшої дози.

Так, перша фаза інтерфероноутворення розпочиналася для штамів №№ 4396 і 4478 з 18 год і тривала до 5 днів з максимальними рівнями ендogenous ІФН, відповідно, 160 – 320 і 80 – 160 од/мл через 48 год після інфікування. На другому етапі інтерферогенезу (з піком накопичення ІФН через 12 днів) дані показники майже не змінювались порівняно з високою дозою і складали, відповідно, 80 і 40 од/мл. Виявлений факт є позитивним моментом для виготовлення специфічних лікувально-профілактичних препаратів, особливо на основі штаму № 4396, що володіє вищою інтерфероніндукуючою активністю.

Наведені результати свідчать про виражену здатність досліджуваних штамів вірусу КЕ стимулювати синтез ендogenous інтерферону та про певну подібність так і відмінність між ними у проявах цього процесу. За інтенсивністю інтерфероноутворення більшою активністю виділяється штам № 4396, а за швидкістю індукції ІФН – штам № 3905. За тривалістю інтерферогенезу всі вони практично однакові.

#### 5. Порівняльне вивчення інтерфероніндукуючих властивостей відібраних штамів вірусу КЕ №№ 2288, 2809, 4245, 4396.

З метою визначення найбільш вірогідного кандидата для виготовлення імунобіологічного препарату для лікування і профілактики КЕ з врахуванням здатності індукувати інтерферон, було проведено підсумкове порівняльне вивчення 4 відібраних штамів вірусу КЕ (№№ 2288, 2809, 4245, 4396), які на попередніх етапах дослідження показали найбільш виражені інтерфероніндукуючі властивості. Дане дослідження здійснювалось на одній партії лабораторних мишей в однакових умовах для всіх вказаних штамів.

Встановлено, що характер інтерфероноутворення під дією досліджуваних штамів в основному збігається з тими показниками, що були отримані при початковому їх вивченню. Характерним є також те, що всі штами стимулюють двохфазну продукцію інтерферону,

перша з яких припадає на 1-3 добу цього процесу з піком активності через 24 год після інфікування, а друга, відповідно, – на 10 – 12 добу (табл.5).

Таблиця 5

Результати порівняльного вивчення інтерфероніндукуючих властивостей відібраних штамів №№ 2288, 2809, 4245, 4396 вірусу кліщового енцефаліту

| Штами  | Доза в ЛД50 | Титри ІФН (в од/мл) в крові мишей через: |          |         |         |          |
|--------|-------------|--|----------|---------|---------|----------|
|        |             | 6 год.                                   | 24 год.  | 48 год. | 72 год. | 120 год. |
| № 2288 | 10          | 10-20                                    | 2560     | 160-320 | 80-160  | 40-80    |
|        | 0,2         | <10                                      | 320-640  | 160     | 80      | 80       |
| № 2809 | 10          | 10-20                                    | 640      | 20-40   | 160     | 80-160   |
|        | 0,2         | <10                                      | 20-40    | 40      | 40-80   | 40       |
| № 4245 | 10          | 10                                       | 320-640  | 40-80   | 40      | 10-20    |
|        | 0,2         | <10                                      | 40-80    | 160     | 40      | 10       |
| № 4396 | 10          | <10                                      | 640-1280 | 160     | 80      | 20       |
|        | 0,2         | <10                                      | 40-80    | 160-320 | 40-80   | 10       |

  

| Штами  | Доза в ЛД50 | Титри ІФН (в од/мл) в крові мишей через: |         |         |         |         |
|--------|-------------|--|---------|---------|---------|---------|
|        |             | 7 днів                                   | 10 днів | 12 днів | 15 днів | 20 днів |
| № 2288 | 10          | 20-40                                    | 320     | 20-40   | 10-20   | <10     |
|        | 0,2         | 20-40                                    | 80-160  | 20      | <10     | <10     |
| № 2809 | 10          | 20                                       | 40      | 160     | 10      | <10     |
|        | 0,2         | <10                                      | 40      | 80-160  | <10     | <10     |
| № 4245 | 10          | <10                                      | 160     | 10-20   | <10     | <10     |
|        | 0,2         | <10                                      | 20-40   | 40-80   | <10     | <10     |
| № 4396 | 10          | <10                                      | 10-20   | 160     | <10     | <10     |
|        | 0,2         | <10                                      | 10      | 40      | <10     | <10     |

Закономірно, що більш значні показники утворення інтерферону спостерігались при застосуванні високої дози вірусу (10 ЛД50/0,2 мл), порівняно з тими, що були отримані у відповідь на введення нижчої дози - 0,2 ЛД50/0,2 мл).

Поряд з зазначеними подібними моментами у індукції інтерферону під дією вказаних штамів, останні володіють і певними відмінностями щодо даної властивості. Так, встановлено, що найбільш значною інтерфероніндукуючою активністю володіє штам № 2288, який на ранніх етапах інтерфероутворення зумовлює найбільш високу і доволі тривалу циркуляцію інтерферону в крові мишей з максимальними титрами від 2560 од/мл на піку

активності через 24 години до 80-160 од/мл через 72 год. Дещо слабшу за інтенсивністю індукцію інтерферону (до 640-1280 од/мл через 24 год) спричиняв штамп № 4396.

Порівняно з вищезгаданими штамми нижчі рівні «раннього» інтерферону (320-640 од/мл) стимулювали штамми №№ 2809, 4245, проте виражена продукція інтерферону (80-160 од/мл) під дією першого штаму була найбільш тривалішою від решту штамів і сягала 5 днів.

Слід також зазначити, що інфікування тварин штамом № 2288 в 50 раз нижчою дозою (0,2 ЛД<sub>50</sub>/0,2мл) не викликало значного послаблення синтезу інтерферону, який реєструвався від 320-640 од/мл через 24 год до 80 од/мл через 120 год.

Особливостями штамів №№ 4245 і 4396 є також те, що пік інтерфероноутворення спричинене низькими їх дозами на ранній стадії спостерігається дещо пізніше – через 48 год, а для штаму № 2809 цей процес тривав більш рівномірно і триваліший термін (до 120 год). Ця деталь, можна припустити, зумовлена особливостями репродукції цих штамів, що призводить до вираженої вірусемії у більш віддаленому часі [7].

Що стосується другої фази індукції інтерферону, викликаній досліджуваними штамми, то слід відмітити, що і в даному випадку більш високих рівнів ІФН порівняно з іншими збудниками спричиняє штамп № 2288, який на 10 добу інтерфероногенезу при застосуванні дози 10 ЛД<sub>50</sub>/0,2 мл зумовлював синтез ІФН в титрах 320 од/мл. Позитивним моментом є і той факт, що значна продукція ІФН (80-160 од/мл) на цей час відбувалась і при введенні нижчої дози – 0,2 ЛД<sub>50</sub>/0,2 мл.

Подібна ситуація спостерігалась і при інфікуванні мишей штамом № 2809 з тією лише різницею, що другий пік його інтерфероніндукуючої активності припадав на 2 дні пізніше – 12 добу інтерфероногенезу.

Друга фаза інтерфероноутворення під дією штамів №№ 4245, 4396 характеризувалась невисокими титрами ІФН (40-80 од/мл) спричиненими низькою дозою вірусів. Відмінність між ними полягала лише в тому, що другий пік інтерфероніндукуючої активності у відповідь на введення високої дози штаму № 4245 реєструвався на 10 добу даного процесу, а у випадку штаму № 4396 при введенні обох доз – на 12 добу.

**Висновки.** Встановлено, що досліджувані штамми вірусу КЕ, в основному, володіють високою інтерфероніндукуючою активністю, яка характеризувалась хвилеподібною динамікою з двома вираженими, як правило, піками накопичення інтерферону в крові мишей, що, очевидно, обумовлено закономірностями репродукції цих штамів та відповідає особливостям патогенезу, а саме вірусемії, при кліщовому енцефаліті [6,7].

Результати дослідження свідчать також про неоднорідність досліджуваних штамів вірусу КЕ, що підтверджує дані інших авторів про гетерогенність популяції цих збудників, в тому числі і тих патогенів, що циркулюють в Україні [1,8].

Результати підсумкового вивчення інтерфероніндукуючих властивостей відібраних штамів КЕ, дають підставу заключити, що при виборі серед кількох потенційних кандидатів з однаковими основними характеристиками для виготовлення імунобіологічного препарату (вакцини, сироватки, імуноглобуліну) перевагу необхідно надати штаму № 2288, який здатний посилити його специфічну дію найбільш сильним і тривалим інтерфероніндукуючим ефектом. На даний штам отримано патент України № 63096 А.

#### 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. 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.
4. Чижов Н.П., Ершов Ф.И., Индулен М.К. Основы экспериментальной химиотерапии вирусных инфекций. -Рига: Зинатне, 1988. 171с.
5. 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 No. 123*.
6. Смородинцев А.А., Дубов А.В. Клещевой энцефалит и его вакцинопрофилактика. -Л.: Медицина, 1986. 232 с.
7. Шлезингер М.Дж. Репликация тогавирусов. Вирусология. –М.: Мир, 1989. С. 343-365 с.
8. 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., 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. 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.
4. Chyzhov N.P., Yershov F.I., Indulen M.K. Fundamentals of experimental chemotherapy of viral infections. Riga; Zinatne, 1988. 171 p. (in Russian).

5. 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 No. 123.
6. Smorodintsev A.A., Dubov A.V. Дубов А.В. Tick-borne encephalitis and vaccine prophylaxis. - L.: Meditsina, 1986. 232 p. (in Russian).
7. Shlezinger M.D. Replication of togaviruses. Virology. –M.: Mir, 1989. P. 343-365 c. (in Russian).
8. Vereta L.A., Vorobyeva M.S. Natural heterogeneity and targeted selection of tick-borne encephalitis virus strains. - M.: Meditsina, 1990. 123 p. (in Russian).

**DETERMINATION OF INTERFERONINDUCING ACTIVITY OF VIRUS STRAINS  
TICK-BITABLE ENCEPHALITIS – POTENTIAL CANDIDATES FOR THE  
PRODUCTION OF IMMUNOBIOLOGICAL PREPARATIONS**

Kozlovskiy M.M.

*Abstract. The results of an experimental study on the interferoninducing activity of 10 selected strains of the tick-borne encephalitis virus in laboratory mice with the aim of identifying potential candidates for the production of immunobiological drugs are given. It was established that the investigated strains of the tick-borne encephalitis virus mainly have high interferoninducing activity, which was characterized by wave-like dynamics with two pronounced, as a rule, peaks of interferon accumulation in the blood of mice. The most optimal candidate for the production of a specific vaccine, serum and immunoglobulin should be considered strain No. 2288, which in a comparative study with other strains showed the strongest and longest interferon-inducing effect.*

**Key words:** tick-borne encephalitis viruses, interferoninducing activity.

Козловський Михайло Михайлович <https://orcid.org/0000-0001-6440-0335>

+38(050) 229 06 75, [kmmnauka@gmail.com](mailto:kmmnauka@gmail.com) .

Надійшла до редакції / Receiv: 27.11.2022