



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **89485**

(13) **U**

(51) МПК

**A61K 39/40** (2006.01)

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2013 12366**

(22) Дата подання заявки: **21.10.2013**

(24) Дата, з якої є чинними  
права на корисну  
модель: **25.04.2014**

(46) Публікація відомостей **25.04.2014, Бюл.№ 8**  
про видачу патенту:

(72) Винахідник(и):

**Рибалко Світлана Леонтіївна (UA),  
Іванська Наїля Валєєвна (UA),  
Григорашева Ірина Миколаївна (UA)**

(73) Власник(и):

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ  
ЕПІДЕМІОЛОГІЇ ТА ІНФЕКЦІЙНИХ  
ХВОРОБ ІМ. Л.В. ГРОМАШЕВСЬКОГО  
АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ",  
вул. М. Амосова, 5, м. Київ, 03038 (UA)**

## (54) СПОСІБ ПІДСИЛЕННЯ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ МІМІКРИНАМИ З БАКТЕРІЙ ПРИ ВАКЦИНАЦІЇ ПРОТИ ВІРУСНИХ І ДЕЯКИХ БАКТЕРІАЛЬНИХ ІНФЕКЦІЙ

(57) Реферат:

Спосіб підсилення імунної відповіді мімікринами з бактерій при вакцинації проти вірусних і деяких бактеріальних інфекцій включає використання ад'ювантів. Як ад'юванти у вакцинах застосовують вуглеводовмісні мімікрини з бактерій.

**UA 89485 U**



Корисна модель належить до ветеринарії та медицини і може бути використана для підсилення імунної відповіді вакцинних препаратів.

В останні роки значно зріс інтерес до ідеї використання ад'ювантів при вакцинації [1]. Тривалий час при імунізації людей застосовували лише такі ад'юванти, як гідроокис і фосфат алюмінію.

Однак, для більшості антигенів ці сполуки виявилися слабшими імуностимуляторами, ніж неліцензовані ад'юванти з бактерій. Недоліком похідних алюмінію з'явилась їх нездатність активувати продукцію інтерлейкіну-2 та  $\gamma$ -інтерферону Т-клітинами-хелперами. Більшість з неліцензованих ад'ювантів виявилися ефективнішими за похідних алюмінію при стимуляції як антитільної, так і клітинно-опосередкованої імунної відповіді. Найбільш перспективними серед них є бактеріальні ад'юванти [2].

Серед бактеріальних ад'ювантів перше місце займають повний та неповний ад'ювант Фрейнда, який є хорошим індуктором клітинного та гуморального імунітету, однак його токсичні властивості не дають можливості використовувати його в комерційних вакцинних препаратах. Варіантом ад'юванту Фрейнда є ад'ювант Detox, який складається з монофосфорилліпиду А і очищених клітинних стінок мікобактерій. Незважаючи на виражені потенційні властивості, Detox також не рекомендований при вакцинації, так як призводить до побічних реакцій.

В останні роки ідентифіковані бактеріальні ад'юванти - холерний токсин В субодиничний, правцевий токсин, молочно-кислі бактерії, рекомбінантний термолабільний ентеротоксин *Escherichia coli* і його субодиниця В, компоненти клітинних стінок бактерій, фібронектин-зв'язуючий білок 1 *Streptococcus pyogenes* та інші ад'юванти, які здатні індукувати антитільну відповідь на поверхні слизових оболонок, що особливо важливо для такої інфекції, як грип.

В даний час активно розвивається вчення про антигенну мімікрію різних біологічних об'єктів і, зокрема, бактеріальних, вірусних, паразитарних, пухлинних пептидів і вуглеводних рецепторів. Властивість мімікрії антигенів є новим стратегічним напрямком в створенні сучасних вакцин та антивірусних препаратів. "Мімотопи", які мають лінійно або конформаційно подібні структури, взаємодіють з широким колом нейтралізуючих моноклональних антитіл, успішно використовуються при експериментальних вірусних інфекціях (респіраторно-синцитіальні віруси, кор, гепатит С та ін.).

В основу корисної моделі поставлена задача створення способу підсилення імунної відповіді мімікріями з бактерій при вакцинації проти вірусних і деяких бактеріальних інфекцій, в якому за рахунок застосування нового агента специфічної ад'ювантної дії забезпечується підвищення титрів захисних антитіл після вакцинації у 2-5 разів.

Для вирішення поставленої задачі спосіб підсилення імунної відповіді мімікріями з бактерій при вакцинації проти вірусних і деяких бактеріальних інфекцій включає використання ад'ювантів.

Згідно з корисною моделлю, як ад'юванти у вакцинах застосовуються вуглеводовмісні мімікрини з бактерій.

Бактеріальні ад'юванти (БА) можуть бути отримані з культурального середовища після вирощування *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* або інших бактерій.

Технічним результатом способу є підвищення титрів захисних антитіл після вакцинації у 2-5 разів.

Приклад 1. Вивчення впливу БА на рівень антитіл при вакцинації грипоною вакциною.

Дослідження ефективності вакцинації з використанням БА проводили на кролях. Для дослідження рівня антитіл до вірусів грипу типу А і В в сироватках крові дослідних та контрольних кролів в реакції пригнічення гемаглютинації застосовували діагностикуми вірусів грипу А New Caledonia /H1N1/20/99, А Panama /H3N2/2007/99, грипу В Hong Kong/330/01 і В Sichuan/379/99.

Результати вивчення впливу мімікрину на рівень антигемаглютининів при вакцинації грипоною вакциною Інфлувак подані в таблицях 1-4.

Таблиця 1

Рівень антигемаглютининів до вірусу грипу типу А New Caledonia /H1N1/20/99

Введення	Рівень антигемаглютининів до вірусу грипу в динаміці спостереження (доба)						
	1	3	5	11	20	41	75
Вакцина Інфлувак	0	0	0	20	80	80	0
Вакцина + БА	20	20	160	320	640	160	0

Таблиця 2

Рівень антигемаглютининів до вірусу грипу типу A Panama /H3N2/2007/99

Введення	Рівень антигемаглютининів в динаміці спостереження (доба)						
	1	3	5	11	20	41	75
Вакцина Інфлувак	0	0	0	160	160	160	0
Вакцина + БА	320	160	80	640	320	640	40

Таблиця 3

Рівень антигемаглютининів до вірусу грипу типу B Hong Kong/330/01

Введення	Рівень антигемаглютининів в динаміці спостереження (доба)						
	1	3	5	11	20	41	75
Вакцина Інфлувак	0	0	0	0	320	160	0
Вакцина + БА	20	20	0	80	640	320	0

Таблиця 4

Рівень антигемаглютининів до вірусу грипу типу B Sichuan/379/99

Введення	Рівень антигемаглютининів в динаміці спостереження (доба)						
	1	3	5	11	20	41	75
Вакцина Інфлувак	0	0	0	0	160	80	0
Вакцина + БА	20	20	0	80	1280	640	0

5 Аналізуючи одержані результати досліджень, слід підкреслити, що грипозна вакцина Інфлувак в дозі 5 мкг на одне введення, стимулює утворення специфічних антигемаглютининів до вірусів грипу типу А (H3 і H1) в невеликих титрах 1:80 і 1:160 відповідно, починаючи з другого тижня після вакцинації. Тривалість імунітету при одноразовому введенні залишалася на рівні 1:80-1:160 протягом 7 тижнів; на 10-11 тижні після вакцинації, антигемаглютиніни до H3 і H1 не визначалися.

10 Динаміка синтезу антигемаглютининів до вірусів грипу типу В дещо відрізнялася від вищенаведеної динаміки синтезу антигемаглютининів до вірусів грипу типу А. Спостерігалось більш пізніше, до кінця 3-го тижня, підвищення титрів антигемаглютининів до вірусів грипу B Hong Kong/330/01 та B Sichuan/379/99, складаючи 320 і 640 відповідно. Ці показники зберігалися протягом 3-х тижнів, на 10-й тиждень після вакцинації антигемаглютиніни до вірусів грипу типу В не визначалися.

15 В дослідних групах із застосуванням БА утворення специфічних антитіл відрізнялося в залежності від застосованого мімікрину, як ад'юванту та типу антигену вірусу грипу. Вплив мімікрину із золотистого стафілококу на синтез антигемаглютининів до антигену вірусу грипу A New Caledonia /H1N1/20/99 було ідентичним. В низьких титрах 1:20 антигемаглютиніни до H1N1 визначалися вже в першу добу, на 5-у добу титри підвищувалися до 1:160 і потім поступово збільшувалися до 1:320-1:640. На 10-й тиждень антигемаглютиніни не визначалися.

20 Синтез антигемаглютининів до вірусу грипу типу A Panama /H3N2/2007/99, при введенні БА, як і до антигену вірусу грипу типу A New Caledonia /H1N1/20/99. Але слід підкреслити статистично достовірне підсилення синтезу антигемаглютининів до H3N2 при введенні БА стафілококу в перші дні першого тижня і більш тривале їх визначення (до 75 Діб).

25 Для вірусів грипу типу В відмічено утворення антитіл до антигенів вірусу грипу до 3-го тижня, стимуляція синтезу антигемаглютининів спостерігалася на 3-7 тижнях до титрів 1:640-1:1280 та припинення синтезу на 10-му тижні.

30 Мімікрини, як ад'юванти, статистично достовірно стимулюють синтез антигемаглютининів при вакцинації вакциною Інфлувак до антигенів вірусів грипу типів A New Caledonia /H1N1/20/99, A Panama /H3N2/2007/99, B Hong Kong/330/01, B Sichuan/379/99, при цьому слід відмітити, що найбільш ефективна була стимуляція ад'ювантом відносно до антигену H3N2.

Приклад 2

35 Проведені дослідження по визначенню ад'ювантної дії мімікрину стафілококу при імунізації вакциною Моногриппол (штам A/H1N1/Каліфорнія).

- Вакцина моногриппол - (неовакцина проти грипу, моновалентна, інактивована, субодинична, імуноад'юванта. Являє собою антигени гемаглютиніну (ГА) та нейрамініну (НА), одержані з вірусу грипу А/Н1N1/, культивованого в курячих ембріонах, та пов'язані з водорозчинним високомолекулярним ад'ювантом поліоксидонієм (виробник Нідерланди Солвей Біолоджі КАПЗ Б.В). В таблиці 5 наведені дані по визначенню антигемаглютиніну в реакції РЗГА у сироватці крові мишей на 10 добу після імунізації вакциною Моногриппол.

Таблиця 5

Визначення антигемаглютиніну в реакції РЗГА  
у сироватці крові мишей на 10 добу після імунізації вакциною Моногриппол

Варіант дослідження	Доза, мкг/миша	№ миши	Титр АТ в РЗГА	Середній титр
Вакцина моногриппол	10	1	80	70
		2	40	
		3	80	
		4	80	
Вакцина +БА	10+0,1 мл	1	320	320
		2	320	
		3	640	
		4	160	

- Результати дослідження по визначенню ад'ювантної активності мімікрину зі стафілококу свідчать про статистично достовірне підвищення рівня антигемаглютинінів до вірусу грипу А/Н1N1/Каліфорнія/.

- Розробка може бути використана наприклад при наступній розробці схем вакцинації, скорочення кратності введення вакцин, навантаження специфічного антигену та заміни повторних введення вакцинних препаратів новими бактеріальними ад'ювантами.

Джерела інформації:

1. Scijns V. Immunological concepts of vaccine adjuvant activity //Curr.Opin.Immunol. - 2000. - Vol.12. - P. 456-463.
2. Vogel F.R. Adjuvants in perspective //Dev.Biol.Stand. - 1998. - Vol. 92. - P. 241-248/

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Спосіб підсилення імунної відповіді мімікринами з бактерій при вакцинації проти вірусних і деяких бактеріальних інфекцій, що включає використання ад'ювантів, який **відрізняється** тим, що як ад'юванти у вакцинах застосовуються вуглеводмісні мімікрини з бактерій.
2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що ад'юванти можуть бути отримані з культурального середовища після вирощування *Staphylococcus aureus*.
3. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що ад'юванти можуть бути отримані з культурального середовища після вирощування *Bacillus subtilis*.

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601