

Рожаев Б.Г.

Казахский национальный аграрный университет

ВИРУСИНГИБИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ АНТИЦЕЛЛЮЛЯРНОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА ПРОТИВ БЕШЕНСТВА

Аннотация

В статье приводятся данные по изучению вирусингибирующего эффекта в культуре клетки почки хомяка антицеллюлярного иммуноглобулина против бешенства спустя 5 суток от момента заражения. Установлено, что антицеллюлярный иммуноглобулин подавляет размножение вируса бешенства в течение 10 суток в культуре клеток.

Ключевые слова: Бешенство, культура клеток, вирусные штаммы, антицеллюлярный иммуноглобулин, вирусингибирование.

Введение

Ежегодно в мире за антирабической помощью обращается более 12 млн. человек. Более 50 тыс. человек и около 1 млн. животных погибают после укусов бешеными животными. Для более 3 миллиардов людей существует угроза подвергнуться нападению бешеных животных [1].

Согласно действующим инструкциям антирабические вакцины, в частности из штамма Щелково-51, применяются не только для профилактической (предэкспозиционной), но и при вынужденной двукратной иммунизации, которую начинают проводить не позднее 48 часов после возможного инфицирования животных. Фактически её осуществляют во время инкубационного периода болезни, продолжительность которого позволяет создавать, при своевременной вакцинации, состояние невосприимчивости ЦНС к вирусу бешенства до его проникновения в этот орган. Однако, при несвоевременном обращении за помощью, а также при многочисленных укусах опасной локализации существует угроза опережающего продвижения возбудителя болезни к ЦНС и развития последствий, в результате которых жертвы перед гибелью становятся опасными источниками инфекции [2, 3].

Такая возможность обуславливает необходимость разработки и совершенствования средств и методов экстренной (постэкспозиционной) защиты ЦНС ценных и редких животных от вируса бешенства. Целесообразность проведения исследований в этом направлении признана и экспертами ВОЗ по бешенству. При этом ими отмечается необходимость «разработки недорогих эффективных схем постэкспозиционной вакцинации ценных (домашних и диких) животных, с возможным применением антирабических антител и неспецифических противовирусных препаратов [4, 5].

ВОЗ по бешенству рекомендовал применение антирабического иммуноглобулина (АРИГ) во всех случаях возможного заражения людей бешенством, так как профилактика бешенства одной антирабической вакциной не всегда эффективна. Препарат АРИГ входит в состав перечня ВОЗ (2000) основных лекарственных средств. Кроме того, длительная вакцинация часто сопровождается аллергическими реакциями на примесные компоненты антирабической вакцины [6, 7, 8].

Гомологичный АРИГ из сыворотки крови человека отличается хорошей переносимостью. Однако он почти недоступен из-за высокой стоимости и небольшого объема производства, которые обусловлены трудностями иммунизации волонтеров и недостаточностью сырьевой базы. Кроме того, заготовка донорской крови все больше ограничивается расширением противопоказаний к сдаче крови из-за низких

физиологических показателей доноров и роста инфекций, передающихся через кровь.

Экономичнее (приблизительно в пять раз по сравнению с ЧАИГ) профилактика бешенства АРИГ из плазмы крови лошадей. Использование последнего поколения очищенного ксеногенного АРИГ намного безопаснее применения лошадиной антирабической сыворотки: частота побочных реакций уменьшилась до 1-2 % [WHO, 2005]. Высокоочищенный препарат АРИГ из плазмы крови лошади является эффективной, доступной, экономичной и относительно безопасной альтернативой гомологичному препарату антирабического иммуноглобулина [9, 10].

В настоящее время многие мировые производители из-за давления, которое оказывают на них защитники прав животных, отказались от производства препаратов гетерологичного антирабического иммуноглобулина. В развивающихся странах производством ксеногенного АРИГ занимаются национальные фармацевтические компании, препараты которых плохо очищены и характеризуются высокой реактогенностью, и не удовлетворяют национальные потребности [11].

Применение специфических гипериммунных сывороток, чревато риском возникновения иммунных реакций, образованием иммунных комплексов, осложнением сывороточной болезнью, проявлением аллергических реакций, что может привести к тяжелым для организма животного последствиям. Целью исследования разработать метод применения специфических средств защиты животных от вируса бешенства при близком контакте с больным. Определить вирусингибирующее действие полученного препарата в культуре тканей.

Материал и методы исследования

Эксперименты проводили на культурах клетки почки хомяка и культуральном вирусе бешенства штамм овечьи. Исследовали цитопатическое действие антицеллюлярного иммуноглобулина, полученного от кролика на культурах клеток почки сирийского хомяка в различных разведениях (от 1:40 до 1:1280). Неспецифические ингибиторы иммуноглобулина устраняли путем нагревания сывороток и иммуноглобулинов в водяной бане при +61⁰С в течение 30 минут. В качестве контроля использовали нормальный иммуноглобулин. Изучение ингибирующего действия проводили с использованием фикс вируса бешенства, штамм овечьи (200 ЦПД₅₀). В культуру клеток вводили вирус бешенства в разведении 1:10, а затем спустя 5 суток к ним вводили разведения испытуемого и контрольного иммуноглобулинов. Наблюдение велось в течение 10 суток.

Результаты исследования и обсуждение

Исследования, проведенные на культуре клеток почки сирийского хомяка показали (таблица 1), что антицеллюлярный иммуноглобулин полученный от кроликов начиная с первых 3-х суток, оказывает вирусингибирующее воздействие в разведении до 1:320, на 6-е сутки в разведении до 1:550 и на 8-10 -е сутки положительный эффект наблюдался в разведении до 1:600.

Установлено, что антицеллюлярный иммуноглобулин, полученные от кроликов оказывает начиная с 3-х суток ингибирующее действие в культуре почки хомяка на репродукцию вирусов в разведениях от 1:160 до 1:320. Ингибирование репродукции вирусов в культурах клеток почки на 10-е сутки было в разведении до 1:600.

Гипериммунный иммуноглобулин против бешенства показал вирусингибирующее действие в разведении до 1:40 в течение первых 3 суток, в разведении 1:80 на 6-е сутки.

Нормальный иммуноглобулин в разведении 1:20 вирусингибирующее действие не показал. Превентивные свойства полученного нами антицеллюлярного иммуноглобулина заключается в том, что он блокирует клеточную мембрану и не допускает размножение вирусов внутри клетки.

Таблица 1 - Определение ингибирующего воздействия антицеллюлярного иммуноглобулина выделенного из сыворотки кролика на репродукцию вирусов бешенства в культуре клеток печени сирийского хомяка по ЦПД₅₀

Сроки просмотра клеток (сутки)	Разведения иммуноглобулина								Окончательный результат
	1:160	1:320	1:400	1:450	1:500	1:550	1:600	1: 700	
2	+	-	-	-	-	-	-	-	-
3	+	+	-	+	-	-	-	-	1:340
4	++	++	++	++	+	-	-	-	1:340
5	++	++	++	+	+	+	-	-	1:380
6	+++	+++	+++	++	++	+	-	-	1:380
7	+++	+++	+++	+++	+++	++	-	-	1:380
8	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	-	1:420
9	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	-	1:420
10	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	-	1:800

Особенностью антицеллюлярного иммуноглобулина является то, что он индифферентен, не содержит специфических рабицидных антител, не вступает в иммунные реакции с вирусом бешенства, следовательно не возникают иммунопатологические процессы.

Применение антицеллюлярного иммуноглобулина позволит предотвратить заболевание бешенством даже спустя 5 суток у зараженных животных. На препарат антицеллюлярный иммуноглобулин получен инновационный патент и авторское свидетельство [12].

Литература

1. Rotivel V, Goudal M, Wirth S. Rabies is a risk for traveling children. Arch. Pediatr. 1998, № 5, 561-567.
2. WHO Expert Consultation on Rabies: first report. WHO technical report series.-2004-N 9. P. 31-38.
3. Комитет экспертов ВОЗ по бешенству 8-й доклад. Женева, 1994. – С.14-16
4. Крупальник В.Л., Нагасингхе Сампат. Бешенство животных. Лекция, Москва, 2005, - С.16-21.
5. Abdou N.I., Amare M., Sagawa A., Abdou N.L. Suppressor T cells in tolerance to desaggregated horse anti-human thymocyte globulin in man // Transplantation. 1980. - Vol. 29, № 4. - P.324-328.
6. Медуницын, Н.В. Вакцинология /2-е изд., перераб. и доп. М.: Триада-Х, 2004. – С.216-223.
7. Овсянц, А.А., Агеенко Г.Б. Препараты для специфической профилактики бешенства. //Биопрепараты. 2001. - № 4. - С.12-14.
8. Майорова, М.И. Опыт получения антирабической сыворотки / М.И. Майорова, И.Е. Корчемкина, М.А. Селимов // Бешенство: сб. тр. Всесоюз. науч. конф. / под ред. Т.

Агурской. М.: Бюро научной информации, 1962.- С.119-125.

9. *Ситник Н.П.* Разработка высокоочищенного препарата иммуноглобулина антирабического из плазмы крови лошади. Дисс. ... кандидат биологических наук 14.00.36. Уфа, 2007.

10. А.с. 200743 А1 СССР, А61К37/06. Способ производства антирабического гаммаглобулина / М.А. Селимов, В.Я. Роговский, С.Р. Резник, Т.А. Аксенова (СССР). Заявл. 18.04.1966 ;опубл. 05.04.1977 //Бюл. изобретений. - 1977. - № 13.

11. *Осидзе Д.Ф.* Репродукция культурального фиксированного вируса бешенства при разных способах культивирования. //Ветеринария. -1990.-№11. - С.57-61.

12. *Рожаев Б.Г., Муралинов К.К.* Способ получения антицеллюлярного иммуноглобулина против бешенства плотоядных животных. Инновационный патент №24844 и авторское свидетельство №71064 от 06.10. 2011.

Рожаев Б.Г.

ҚҰТЫРЫҚҚА ҚАРСЫ АНТИЦЕЛЛЮЛАРЛЫ ИММУНОГЛОБУЛИННІҢ ВИРУСИНГИБИРЛЕУШІ ӘСЕРІ

Мақалада құтырыққа қарсы антицеллюларлы иммуноглобулиннің вирусингибирлеуші әсерін аламанның бүйрек торша өсінін зарарланғаннан 5 күн өткеннен кейін зерттеу нәтижелері келтірілген. Антицеллюларлы иммуноглобулиннің торша өсінінде құтырық вирусының көбеюін 10 тәулікке тоқтататыны анықталған.

Кілт сөздер: құтырық, торша өсіні, вирус штамдары, антицеллюларлы иммуноглобулин, вирусингибирлеу.

Rozhayev B.G.

VIRUSINGIBIRUYING EFFECT OF ANTITSELLYULAR IMMUNOGLOBULIN AGAINST RABIES

The data on studying of virusingibiruying effect in culture of a hamster kidney cell of antitsellyular immunoglobulin against Rabies 5 days later from the infection moment are provided in this article. It was established, that antitsellyular immunoglobulin suppresses reproduction of a virus of Rabies within 10 days in culture of cages.

Keywords: Rabies, culture of cages, virus strains, antitsellyular immunoglobulin, virusingibirovaniye.