

**(ІНФОРМАЦІЙНИЙ ЛИСТ)
МОДЕЛЬ ЗНЕЗАРАЖЕННЯ ШТАМІВ-
КАНДИДАТІВ ДЛЯ ОТРИМАННЯ ВАКЦИННИХ
ПРЕПАРАТІВ**

**Світлана Деркач, Артур Мартинов, Надія Скляр,
Анатолій Марющенко,
Наталія Куцай, Валентина Дяченко**

**ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.
Мечникова Національної академії медичних наук
України»**

Затверджено Вченою Радою ДУ «ІМІ НАМН», Протокол
№ 8 від 21.09.2023

Рецензент : Попов М.М., доктор мед. наук,
професор, професор кафедри інфекційних хвороб та
клінічної імунології Харківського національного
університету ім. В.Н. Каразіна.

*Пропонується для використання в науково-
дослідній та практичній роботі профільних установ
МОЗ та НАМН України (НДІ, кафедр медичних та
фармакологічних вузів, лабораторій клінічних
відділень та біотехнології) модель отримання імунних
препаратів, в основі якої застосовується уніфікований
новітній спосіб фотодинамічної інактивації
бактерій-збудників, який дозволяє без змін
антигенного складу клітинних компонентів стабільно
руйнувати їх РНК та ДНК . У якості мікроорганізмів-
кандидатів слугують бактерії-збудники, вилучені із
різних біотопів хворих на гнійно-запальні
захворювання та від поранених з ускладненнями
інфекційного генезу, у тому числі збудники
внутрішньоклітинних інфекцій.*

Оскільки серед домінуючих етіологічних
чинників указаної патології залишається синьогнійна
паличка, запропонована модель відпрацьована на
культурах *P.aeruginosa* : на антибіотикорезистентних,
фагостійких типових та атипічних штамів, у тому
числі нозокоміальних. Синьогнійна паличка має
значний серогруповий пейзаж, високу
полірезистентність до антибактеріальних засобів та є
стійкою до дезінфектантів , асептиків і факторів
навколишнього середовища. Ефективність лікування
антибіотиками чи специфічними бактеріофагами є
досить низькою, а здатність до плівкоутворення на
ранових та опікових поверхнях, на катетерах, протезах
формує хронічний перебіг захворювання,
супроводжується виникненням свищів, абсцесів,
пневмоній, відторгненням імплантатів та проблемами
з протезуванням, що призводить до інвалідизації і ,
нерідко , до летальності хворих. Ефективні
імунопрепарати на сьогодні відсутні, тому проблема
удосконалення засобів боротьби з синьогнійною
інфекцією має вавжливе соціально-економічне
значення. Найбільш перспективним напрямком
лікування таких мінливих інфекційних патологій, як
псевдомонози, є персоналізація вакцинації через
технології швидкого виготовлення аутовакцин для

лікування конкретних хворих. Даний спосіб також є
придатним для отримання ефективних «локальних»
вакцин – з використанням клінічних, циркулюючих у
конкретному лікувальному закладі чи в інших
осередках інфекції штамів бактерій. Такі вакцинні
препарати здатні попереджати виникнення
нозокоміальних псевдомонозів та застосовуватись для
імунопрофілактики серед осіб груп ризику у закритих
колективах, у конкретних лікувальних закладах, тощо.
Для одержання таких імунопрепаратів необхідно
вилучити від хворого актуальний штам (або штами) у
якості кандидата для знезараження і отримання
антигенного комплексу. Далі технологія включає
накопичення біомаси штаму-збудника, для чого його
культивують на поживному середовищі протягом 48
годин, готують суспензію культури у
триптиказосоевому бульйоні (ТСБ) з 1% глюкози у
концентрації 10^6 КУО/мл. До суспензії послідовно
додають фотосенсибілізатори : рибофлавіну
мононуклеотид та вікасол (менадіону сульфат натрію)
з таким розрахунком , щоб кінцева концентрація
кожного з компонентів становила 0,1 – 1,0 %. Розчин
втримують із фотосенсибілізаторами по 30 хвилин у
термостаті при $t = 35^{\circ}C$, після чого опромінюють
послідовно по 20 хвилин двома видами промінів –
ультрафіолетовим ($\lambda = 280$ нм) та видимим, від
фотополімерної лампи ($\lambda = 450$ нм). Зразки
інкубують протягом 24 годин при $t = 35, 0^{\circ}C$, після
чого центрифугують протягом 30 хвилин при 8 тис. g /
хв. Надосадову рідину видаляють, а осад
ресуспензують у фізіологічному розчині. З метою
контролю знезараження бактерій проводять
контрольні висіви отриманої вакцини на селективні
середовища. Зберігати вакцинні зразки необхідно у
холодильнику при $t = 4^{\circ}C$.

Враховуючи той факт, що для знезараження
бактерійної культури застосовуються ендогенні
повністю нешкідливі речовини (вітаміни групи
В і К) і зовсім відсутні хімічні добавки, токсичні
суміші, тощо, отримані імунні комплекси не
потребують додаткового очищення чи , навіть,
вивчення кожного отриманого зразка на наявність
токсигенності та реактогенності, що забезпечує значні
переваги фотодинамічного способу у порівнянні з
іншими. Дана технологія спрощує та робить більш
доступною і недорогівартісною саму можливість
динамічно, по мірі необхідності виготовляти
аутовакцини із аутоштамів (або « локальні» із
актуальних регіональних штамів), скорочує час для їх
приготування, оскільки ліквідує необхідність
використання хімічних домішок з наступним
очищенням готового препарату.

Експериментальне вивчення оптимальних
параметрів застосування уніфікованого способу
фотодинамічної інактивації штамів-кандидатів
P.aeruginosa підтвердило повноту знезараження
бактерій : нездатність до «реверсії» та збереження
життєздатності бактеріальних клітин, відсутність
реактогенності на різних моделях вивчення, наявність
імуногенних властивостей (активація клітинних та
гуморальних механізмів, направлених на формування

поствакцинального імунітету), достовірність протективної активності (здатність захищати від зараження).

Вивчення можливості застосування розроблених запропонованим способом аутовакцин по відношенню до попередньо інфікованих та/або хворих тварин засвідчує про перспективність вакцинотерапії, про можливість отримання донорської специфічної антисиньогнійної плазми, застосування донорської крові, що містить антисиньогнійні антитіла, тощо.

Відпрацьований на моделі *P.aeruginosa* спосіб отримання імуногенів (аутовакцин чи «локальних» вакцин) може бути успішним для отримання аналогічних препаратів із інших бактерій-збудників гнійно-запальних захворювань та конструювання полівалентних вакцинних препаратів.

(Information letter) Model of microorganism's inactivation for obtaining vaccines

Svitlana Derkach, Artur Martynov, Nadiya Sklyar, Anatoly Maryushchenko, Nataly Kutsay, Valentina Dyachenko

A model has been proposed for the production of immune drugs that can be used in specialized institutions of the Ministry of Health and the National Academy of Medical Sciences of Ukraine. These institutions include research institutes, departments of medical and pharmacological universities, laboratories of clinical departments, and biotechnology. The model is based on a new method of photodynamic inactivation of pathogenic bacteria, which destroys their RNA and DNA without changing the antigenic composition of cellular components. The candidate microorganisms are pathogenic bacteria that have been isolated from patients with purulent-inflammatory diseases and wounds with complications of infectious origin, including pathogens of nosocomial infections.

Keywords: microorganism's inactivation, vaccines