УДК 621.785.9:577.152.54:661.746
DOI: 10.52419/issn2782-6252.2023.4.46

ХРАНЕНИЕ ШТАММА *BACILLUS ANTHRACIS* МЕТОДОМ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОЙ КОНСЕРВАЦИИ

Родионов Александр Павлович, канд.ветеринар.наук,
Иванова Светлана Викторовна, канд.биол.наук,
Сайфуллин Алмаз Саубанович, канд.биол.наук,
Хусаинов Ильнур Тагирович,
Дуплева Лилия Шамиловна, канд.биол.наук,
Мельникова Лилия Арсентьевна, канд.ветеринар.наук,
Артемьева Елена Александровна, канд.ветеринар.наук,
Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Россия

РЕФЕРАТ

Хранение промышленно ценных штаммов микроорганизмов является одной из стратегических задач современной науки и биологической промышленности. Производство и своевременная реализация лечебных, профилактических и диагностических препаратов против сибирской язвы способствует поддержанию стабильной эпизоотической ситуации в России по данному заболеванию. Поэтому разработка и изучение способов консервации штаммов *Bacillus anthracis* является важной научно-исследовательской работой, позволяющей сохранять уникальные биологические свойства клеток данного возбудителя. Целью настоящей работы было изучить сохранность жизнеспособности и биологических свойств штамма *Bacillus anthracis* после 12 месяцев низкотемпературной консервации. В работе использовали штамм К-СТИ-79 возбудителя сибирской язвы. Штамм хранили в течение 12 месяцев при температуре минус 70 ˚С в двух криопротекторных средах: 15 % раствором глицерина с 15 % раствором глюкозы и 30 % нейтральный раствор глицерина на физиологическом растворе. По прошествии 6 и 12 месяцев хранения клетки извлекали из консервации, размораживали при 37 ˚С, делали десятикратные разведения в стерильном физиологическом растворе и высевали для определения концентрации жизнеспособных клеток. Сохранность биологических свойств возбудителя изучали согласно МУК 4.2.2413-08. В результате работы было установлено, что выбранные криопротекторы и температурный режим хранения позволил сохранить в жизнеспособном состоянии высокое количество клеток, которое статистически значимо не отличалось от исходной концентрации. Изучение биологических свойств штамма показало их соответствие паспортным данным. Проведенная работа демонстрирует возможность эффективного использования примененной схемы низкотемпературной консервации штаммов *Bacillus anthracis* в течение 12 месяцев.

Ключевые слова: *Bacillus anthracis*, низкотемпературная консервация, штамм, коллекция микроорганизмов, биологические свойства.

ВВЕДЕНИЕ

Коллекционная деятельность, направленная на поддержание жизнеспособности и сохранение биологических свойств возбудителей особо опасных болезней, является одной из приоритетных задач современной науки и биологической промышленности [2]. Штаммы микроорганизмов, хранящиеся в государственных коллекциях, используются биопредприятиями страны для разработки и производства средств профилактики, диагностики и терапии инфекционных болезней животных и человека [1, 3-6, 9, 10].

Своевременное производство и реализация профилактических, диагностических и терапевтических противосибиреязвенных препаратов является залогом биологической безопасности нашей страны по данному заболеванию [11]. В связи с этим, сохранение жизнеспособности и ценных биологических свойств промышленно ценных штаммов возбудителя сибирской язвы - Bacillus anthracis, является важной задачей современных коллекций особо опасных микроорганизмов.

Для сохранения жизнеспособности и биологических свойств возбудителей коллекционные центры используют различные методы консервации, такие как субкультивирование, лиофилизация, низкотемпературная консервация и др. [8]. В настоящее время одним из наиболее простых и распространенных методов хранения микроорганизмов является низкотемпературная консервация [12, 13]. В связи с вышеизложенным перед нами была поставлена цель - изучить возможность низкотемпературной консервации штаммов B. anthracis.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали штамм К-СТИ-79 возбудителя сибирской язвы. Клетки выращивали на мясопептонном агаре (МПА) в течение 7 суток при 37 ˚С для получения споровой биомассы. Определение формирования зрелых спор фиксировали путем приготовления мазков из 7-суточных агаровых культур, окраской по Ребигеру и микроскопией. После установления клеточной формы споровою массу смывали стерильным 0,9 %-м физиологическим раствором хлорида натрия и определяли изначальную концентрацию жизнеспособных спор путем посева на МПА с последующим подсчетом колониеобразующих единиц (КОЕ). Затем клетки отмывали от остатков питательной среды путем центрифугирования: 3 раза по 15 минут при 3000 об/мин. После последнего центрифугирования супернатант уда-

ляли и к осевшим клеткам добавляли раствор криопротектора, ресуспендировали и разливали в пробирки по 1 см3 с последующей закладной в низкотемпературный холодильник при минус 70 ˚С.

В качестве криопротекторов использовали: 15 % раствор глицерина с 15 % раствором глюкозы (среда №1) и 30 % нейтральный раствор глицерина на физиологическом растворе (среда №2).

По прошествии 6 и 12 месяцев консервации пробирки извлекали из морозильной камеры. Содержимое оттаивали при 37 ˚С до полного растворения частичек льда в пробирке. После разморозки отбирали аликвоты образцов, проводили ряд десятикратных разведений до значения 10-5 в стерильном 0,9 %-м физиологическом растворе хлорида натрия с дальнейшим посевом 0,1 мл суспензии из двух последних разведений на 4 чашки Петри с МПА. Через 24 часа инкубации при температуре 37 ˚С проводили подсчет КОЕ.

После подсчета жизнеспособных клеток проводили изучение сохранности биологических свойств штамма согласно МУК 4.2.2413-08 «Лабораторная диагностика и обнаружение возбудителя сибирской язвы» [7]. Используемые в работе питательные среды произведены в ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ».

Оценку морфологии выросших колоний проводили визуально и под световым микроскопом Микмед-5. Статистическую обработку результатов исследований осуществляли с помощью критерия $\chi 2$, используя онлайн-платформу medstatistic.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Первым этапом работы было получение споровой формы клеток *B. anthracis*. Перед этим, для контроля, нами был приготовлен мазок из вегетативной формы возбудителя (Рис. 1А). С целью получения споровой формы вторая генерация клеточной массы была посеяна на МПА и выдержана с доступом кислорода под ватно-марлевыми пробками в течение 7 суток при 37 ˚С. По прошествии экспозиции из выросшей культуры был сделан мазок, окрашен по методу Ребигера и микроскопирован. Результаты микроскопии приведены на рисунке 1В.

Как видно из рисунка 1, нам удалось получить споровую форму возбудителя. При этом процентное содержание спор в 7-суточной культуре составило более 99 %.

При определении концентрации живых клеток мы установили, что через 24 часа после посева на МПА из разведения 10-5 на чашках выросло в среднем 101,2 ± 9,5 колоний.

После подтверждения образования спор и определения количества жизнеспособных клеток они были смыты, отмыты от питательной среды и заключены в растворы криопротекторов с последующим помещением на консервацию при температуре минус 70 ˚С. По прошествии 6 и 12 месяцев пробирки с клетками были извлечены и посеяны на МПА для определения их жизнеспособности, концентрации живых клеток и изучения сохранности биологических свойств.

Динамика количества КОЕ после 6 и 12 месяцев хранения при минус 70 ˚С представлены в таблице 1.

Из данных, представленных в таблице, видно, что количество КОЕ как через 6 месяцев, так и через 12 месяцев низкотемпературной консервации не имели статистически значимых различий с количеством живых спор до замораживания. Данный факт позволяет заключить, что хранение спор B. anthracis в растворах исследуемых криопротекторов в течение 1 года при минус 70 ˚С позволяет сохранять жизнеспособность исходного числа клеток. Статистически не значимая разница в среднем количестве КОЕ при посевах объясняется неравномерным распределением количества клеток по криопробиркам при их подготовке к низкотемпературной консервации.

Важным критерием для оценки качества консервации является сохранность биологических свойств возбудителя. С этой целью мы изучили культурально-морфологические, тинкториальные и биохимические свойства клеток на их соответствие паспортным данным. В результате исследований было установлено, что суточные агаровые культуры клеток, подвергшихся низкотемпературной консервации, образуют типичные по форме матово-серые шероховатые колонии, диаметром от 2 до 4 мм (Рис. 2А). Под малым увеличением микроскопа видно, что от центра к краю колонии отходят извилистые локоноподобные отростки, напоминающий «львиную гриву» или «голову медузы» [7] (Рис. 2В).

В мясопептонном бульоне (МПБ) клетки росли в виде комочка ваты на дне прозрачной среды (Рис. 3А). При инкубации на 5 %-м кровяном агаре суточная культура не проявила гемолитической активности (Рис. 3В).

Приготовление мазка из суточной бульонный культуры и окраска по Граму позволила наблюдать типичные крупные грамположительные палочки, образующие цепочки (Рис. 4А). При микроскопии препарата висячая капля было установлено, что клетки не обладали подвижностью. Инкубация в среде ГКИ с последующим приготовлением и окраской мазков по Ребигеру позволила выявить отсутствие наличия способности к капсулообразованию штамма.

Биохимические свойства штамма также были типичными для возбудителя сибирской язвы. Штамм ферментировал без образования газа глюкозу, мальтозу и сахарозу. Не ферментировал лактозу и маннит. При посеве в среду с пенициллином, через 3 часа наблюдали феномен «жемчужного ожерелья». Клетки не продуцировали индол, не обладали лецитиназной активностью. Обладали способностью разжижать 12 %-й желатин на 5-е сутки. При посеве в обезжиренное молоко наблюдали его свертывание с последующей пептонизацией. Результаты изучения биохимических свойств представлены в таблице 2.

Таким образом было установлено, что все изученные биологические свойства штамма соответствовали паспортным данным, что демонстрирует эффективность консервации клеток *B. anthracis* в выбранных нами криопротекторных средах и температуре минус 70 ˚С.

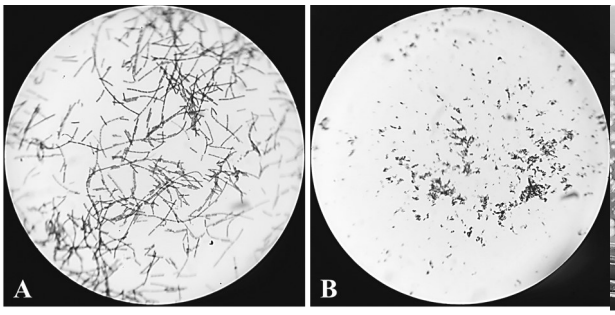

Рисунок 1. Мазок вегетативной и споровой форм клеток *B. anthracis*, окрашенных по Ребигеру (увеличение 10 х 100): А – вегетативная форма; В – споровая форма.

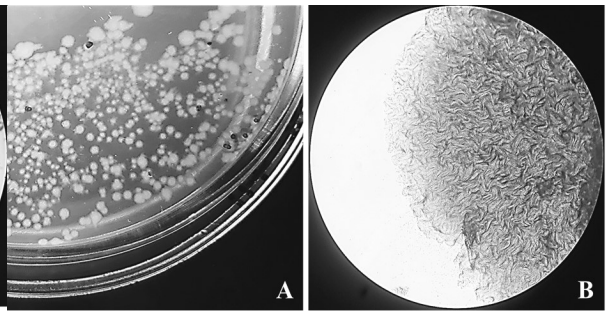

Рисунок 2. Суточные агаровые культуры *B. anthracis* на МПА: А – вид колоний при визуальном осмотре; В – вид колоний под малым увеличением микроскопа (10 х 8).

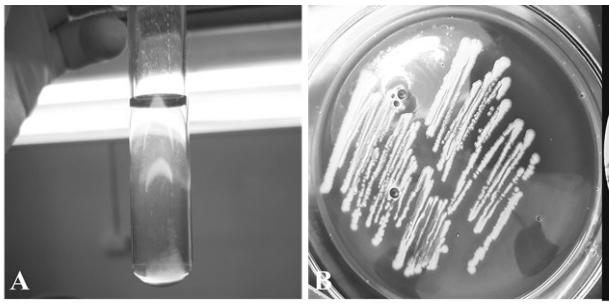

Рисунок 3. Суточная культура *B. anthracis* в МПБ (А); Суточная культура B. anthracis на 5 %-м кровяном агаре (В).

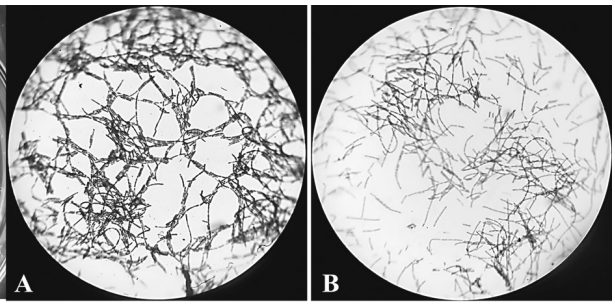

Рисунок 4. Микроскопия мазка суточной бульонной культуры клеток *B. anthracis*, окрашенных по Граму (А); микроскопия мазка суточной культуры из среды ГКИ, окрашенной по Ребигеру (В) (увеличение 10 х 100).

Таблица 1.

Динамика количества КОЕ клеток *B. anthracis* в течение 12 месяцев хранения при температуре минус 70 ˚С

Криопротектор	Среднее число КОЕ до консервации	Среднее число КОЕ через 6 месяцев консервации	Среднее число КОЕ через 12 месяцев консервации
Среда №1	101,2 ± 9,5	98,0 ± 4,47	101,0 ± 12,11
Среда №2		97,4 ± 5,12	98,5 ± 19,23

Таблица 2.

Результаты изучения биохимических свойств штамма К-СТИ-79 *B. anthracis* через 12 месяцев низкотемпературной консервации

№ п/п	Показатель	Результат
1	Ферментация глюкозы	+
2	Ферментация лактозы	-
3	Ферментация маннита	-
4	Ферментация мальтозы	+
5	Ферментация сахарозы	+
6	Чувствительность к пенициллину с образованием феномена «жемчужного ожерелья»	+
7	Продукция индола	-
8	Лецитиназная активность	-
9	Разжижение 12 %-го желатина	+
10	Свертывание и пептонизация молока	+/+
Примечание: «+/-» - положительный/отрицательный результат теста		

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенной работы было установлено, что консервация споровой формы клеток штамма К-СТИ-79 *B. anthracis* при минус 70 ˚С в криопротекторах (15 % раствор глицерина с 15 % раствором глюкозы и 30 % нейтральный раствор глицерина на физиологическом растворе) позволяет сохранять исходное количество жизнеспособных клеток в течение 12 месяцев. При этом, изучение биологических свойств штамма, подвергшегося низкотемпературной консервации, продемонстрировало сохранность типичных для *B. anthracis* показателей, что свидетельствует о эффективности проведенной консервации. Таким образом можно констатировать, что примененные нами криопротекторные среды и температурный режим консервации спор *B. anthracis* может быть использован для хранения клеток в течение 12 месяцев.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анисимова Е.А. Дифференциация штаммов *Bacillus anthracis* на основе SNP- и VNTR-полиморфизма геномов / Е.А. Анисимова, Н.А. Фахрутдинов, Д.А. Миргазов и др. // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2022. - №6. – С. 560-567.
2. Грачева И.В. Принципы формирования коллекционных фондов штаммов микроорганизмов / И.В. Грачева, А.В. Осин, В.В. Кутырев // Проблемы особо опасных инфекций. – 2021. - №2. – С. 16-23.
3. Дуплева Л.Ш. Иммунобиологические свойства ассоциированной вакцины против инфекционного кератоконъюнктивита крупного рогатого скота на основе антигенов бактерий *Moraxella bovis* и *Moraxella bovoculi* / Л.Ш. Дуплева, Г.Н. Спиридонов, И.Т. Хусаинов, А.Ф. Махмутов // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2021. - №1. – С. 36-40.
4. Евстифеев В.В. Оценка эффективности универсальной вакцины против хламидиоза сельскохозяйственных животных на кроликах / В.В. Евстифеев, Ф.М. Хусаинов, С.И. Яковлев // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2021. - №1. – С. 41-45.
5. Иванова С.В. Получение эритроцитарного сибиреязвенного антигена / С.В. Иванова, Л.А. Мельникова, Х.Н. Макаев и др. // Ветеринарный врач. - 2019. - №2. - С. 22-25.
6. Иванова С.В. Применение эритроцитарного диагностикума для оценки эффективности иммунопрофилактики сибирской язвы у крупного рогатого скота / С.В. Иванова, Л.А. Мельникова, А.П. Родионов и др. // Ветеринария. - 2019. - №11. - С. 25-28.
7. Лабораторная диагностика и обнаружение возбудителя сибирской язвы: Методические указания. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. 2009. – 69 с.
8. Похиленко В.Д., Методы длительного хранения коллекционных культур микроорганизмов и тенденции развития / В.Д. Похиленко, А.М. Баранов, К.В. Детушев // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. - 2009. - № 4. - С. 99-121.
9. Салмаков К.М. Сравнительное изучение иммуногенных свойств живых и инактивированных противобруцеллезных вакцин при ревакцинации овец / К.М. Салмаков, А.М, Фомин, Г.М. Сафина и др. // Ветеринарный врач. – 2013. - №4. – С. 5-8.
10. Хузин Д.А. Разработка и апробация экспериментальных серий вакцин против некробактериоза / Д.А. Хузин, Н.В. Мельник, Д.Н. Латфуллин // Вестник Омского государственного аграрного университета. – 2019. - №4. – С. 146-153.
11. Шевцов А.Н. Вклад военных ученых в создании вакцинно-сывороточных препаратов против сибирской язвы / А.Н. Шевцов, О.В. Коротышев, Р.Ш. Зиганшин и др. // Вестник войск РХБ защиты. – 2021. - №4. – С. 384-396.
12. Cui S. Improving the survival of *Lactiplantinti-bacillus plantarum* during lyophilization based on the regulation of cell membranes / S. Cui, K. Hu, Z. Qian et al. // Microorganisms. – 2022. - №10. – P. 1985.
13. Fissor D. Freeze drying and analytical technologies for pharmaceuticals / D. Fissor, T. McCoy // Frontiers in chemistry. – 2018. – 6. P. 622.

STORAGE OF BACILLUS ANTHRACIS STRAIN USING LOW TEMPERATURE PRESERVATION METHOD

Alexander P. Rodionov, PhD of Veterinary Sciences
Svetlana V. Ivanova, PhD of Biological Sciences
Almaz S. Sayfullin, PhD of Biological Sciences
Ilnur T. Khusainov
Liliya Sh. Dupleva, PhD of Biological Sciences
Liliya A. Melnikova, PhD of Veterinary Sciences
Elena Al. Artemyeva, PhD of Veterinary Sciences
Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Russia

Storage of industrially valuable strains of microorganisms is one of the strategic tasks of modern science and the biological industry. The production and timely implementation of therapeutic, preventive and diagnostic drugs against anthrax contributes to maintaining a stable epizootic situation in Russia for this disease. Therefore, the development and study of methods for storing industrially valuable strains of *Bacillus anthracis* is an important research work that allows preserving and preserving the unique biological properties of the cells of this pathogen. The purpose of this work was to study the preservation of the viability and biological properties of the Bacillus anthracis strain after 12 months of low-temperature preservation. The strain K-STI-79 of the causative agent of anthrax was used in the work. The strain was stored for 12 months at a temperature of minus 70 C in two cryoprotective media: 15% glycerin solution with 15% glucose solution and 30% neutral glycerin solution in saline solution. After 6 and 12 months of storage, the cells were removed from preservation, thawed at 37 C, tenfold dilutions were made in sterile saline solution and seeded to determine the concentration of viable cells. The safety of the biological properties of the pathogen was studied according to MUC 4.2.2413-08. As a result of the work, it was found that the selected cryoprotectors and the temperature regime of storage allowed to keep a high number of cells in a viable state, which did not significantly differ statistically from the initial concentration. The study of the biological properties of the strain showed their compliance with passport data. The conducted work demonstrates the possibility of effective use of the applied scheme of low-temperature preservation of Bacillus anthracis strains for 12 months.

Key words: Bacillus anthracis, low-temperature preservation, strain, collection of microorganisms, biological properties.

REFERENCES

1. Anisimova E.A. Differentiation of anthrax strains based on SNP - and the results of vntr polymorphism of genomes / E.A. Anisimova, N.A. Fakhrutdinov, D.A. Mirgazov et al. // Vavilov Journal of Genetics and Breeding. – 2022. - No. 6. – pp. 560-567.
2. Gracheva I.V. Principles formation of collection funds of strains of microorganisms / I.V. Gracheva, A.V. Osin, V.V. Kutyrev // Problems of especially dangerous infections. – 2021. - No. 2. – pp. 16-23.
3. Dupleva L.S. Immunobiological properties of an associated vaccine against infectious bovine keratoconjunctivitis

based on bacterial antigens *Moraksellu bovis* and *Moraksellu bovoculi* / L.S. Dupleva, G.N. Spiridonov, I.T. Khusainov, A.F. Makhmutov // Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman. – 2021. - No. 1. – pp. 36-40.
4. Evstifeev V.V. Evaluation of the effectiveness of a universal vaccine against chlamydia of farm animals on rabbits / V.V. Evstifeev, F.M. Khusainov, S.I. Yakovlev // Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman. – 2021. - No. 1. – pp. 41-45.
5. Ivanova S.V. Obtaining erythrocyte anthrax antigen / S.V. Ivanova, L.A. Melnikova, H.N. Makaev et al. // Veterinary doctor. - 2019. - No.2. - pp. 22-25.
6. Ivanova S.V. The use of erythrocyte diagnosticum to assess the effectiveness of immunoprophylaxis of anthrax in cattle / S.V. Ivanova, L.A. Melnikova, A.P. Rodionov et al. // Veterinary Medicine. - 2019. - No. 11. - pp. 25-28.
7. Laboratory diagnostics and detection of the causative agent of anthrax: Guidelines. – M.: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor. 2009. – 69 p.
8. Pokhilenko V.D., Methods of long-term storage of collection cultures of microorganisms and development trends / V.D. Pokhilenko, A.M. Baranov, K.V. Detushev // Izvestia of higher educational institutions. Volga region. Medical sciences. - 2009. - No. 4. - pp. 99-121.
9. Salmakov K.M. Comparative study of immunogenic properties of live and inactivated brucellosis vaccines during sheep revaccination / K.M. Salmakov, A.M., Fomin, G.M. Safina et al. // Veterinary doctor. – 2013. - No. 4. – pp. 5-8.
10. Khuzin D.A. Development and approbation of experimental series of vaccines against necrobacteriosis / D.A. Khuzin, N.V. Melnik, D.N. Latfullin // Bulletin of Omsk State Agrarian University. – 2019. - No. 4. – pp. 146-153.
11. Shevtsov A.N. Contribution of military scientists in the creation of vaccine-serum preparations against anthrax / A.N. Shevtsov, O.V. Korotyshev, R.Sh. Ziganshin et al. // Bulletin of the Troops of the Russian Defense Forces. – 2021. - No. 4. – pp. 384-396.
12. Cui S. Improving the survival of *Lactiplantintibacillus plantarum* during lyophilization based on the regulation of cell membranes / S. Cui, K. Hu, Z. Qian et al. // Microorganisms. – 2022. - №10. – P. 1985.
13. Fissor D. Freeze drying and analytical technologies for pharmaceuticals / D. Fissor, T. McCoy // Frontiers in chemistry. – 2018. – 6. P. 622.

УДК 579.64:636.5
DOI: 10.52419/issn2782-6252.2023.4.50

ПРОТИВОБАКТЕРИАЛЬНЫЕ ВАКЦИНЫ ДЛЯ ПТИЦ, ИЗГОТОВЛЕННЫЕ НА ОСНОВЕ АДЪЮВАНТА ICTYOLANE™ 11

Панкратов Сергей Вячеславович, канд.ветеринар.наук, доц.
Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, Россия

РЕФЕРАТ

Применение антимикробных препаратов и вакцинопрофилактика являются основанными способами предупреждения и борьбы с большинством болезней бактериальной этиологии. В тоже время бесконтрольное использование противомикробных средств без определения чувствительности микроорганизмов, как правило не дает возможности получить положительный терапевтический результат. При этом грамотно составленная схема применения инактивированных вакцин, с учетом эпизоотической ситуации, является эффективным и безопасным инструментом контроля бактериальных болезней.

В связи с этим представленные в данной статье результаты испытания образцов вакцин против бактериальных болезней птиц, изготовленных на основе современного масляного адъюванта ICTYOLANETM 11, являются интересными и своевременными.

Для проведения исследований на основе масляного адъюванта ICTYOLANETM 11 было изготовлено три образца вакцин. Первый образец вакцины – против сальмонеллеза птиц, второй – против пастереллеза птиц и третий – против респираторного микоплазмоза птиц.

Анализ полученных результатов показал, что все образцы вакцин, изготовленные на основе масляного адъюванта ICTYOLANETM 11, отвечали заданным параметрам по показателям вязкости и стабильности, обеспечивали формирование гуморального иммунитета необходимого уровня, соответствуя требованиям для препаратов подобного класса.

Но наряду с хорошими физико-химическими и иммунологическими показателями вакцины против сальмонеллеза и пастереллеза птиц в той или иной степени проявляли реактогенные свойства, в то время как вакцина против респираторного микоплазмоза птиц была ареактогенна.

На основание полученных результатов исследований можно заключить, что использование адъюванта ICTYOLANETM 11 в производстве вакцины против респираторного микоплазмоза птиц позволяет получить безопасный и эффективный иммунобиологический препарат.

Ключевые слова: масляный адъювант, ICTYOLANE™ 11, бактериальные болезни птиц.

ВВЕДЕНИЕ

На протяжение последних лет в связи с возрастающей интенсификацией современного птицеводства проблема появления бактериальных инфекций в промышленном птицеводстве становится все более актуальной [1].

Возникновение в птицеводческих хозяйствах болезней бактериальной этиологии приводит к значительному экономическому ущербу из-за повышенного падежа и выбраковки птиц, снижения мясной и яичной продуктивности, ухудшения биологических качеств эмбрионов и, как следствие, выводимости цыплят, понижения конверсии корма, увеличения затрат на проведение оздоровительных мероприятий. Кроме того, наличие бактериальных болезней приводит к снижению поствакцинального противовирусного иммунитета и повышению чувствительности