



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-2-177-182>
УДК 619:616.98:578.824.11:615.37



Адъювантные свойства производных хитозана при введении мышам антирабической вакцины

К. Б. Доброскок, Е. И. Ярыгина, М. С. Липатова, М. С. Калмыкова

ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К. И. Скрябина»
(ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина), ул. Академика Скрябина, 23, г. Москва, 109472, Россия

РЕЗЮМЕ

Для специфической иммунопрофилактики особенно актуальным остается вопрос поиска препарата, который бы отвечал всем требованиям, предъявляемым к современным адъювантам. В литературе много сведений о положительном влиянии хитозана, в том числе и на иммунную систему. В статье представлены результаты доклинических испытаний препаратов на основе различных форм хитозана, которые являются экономически доступными. В качестве испытуемых были взяты три препарата производства ООО «Биопрогресс» (г. Щелково, Россия): хитозан водорастворимый (сукцинат) – 2%-й раствор; хитозан пищевой (водорастворимый) – 2%-й раствор; хитозан пищевой (кислоторастворимый) – 2%-й раствор; а также вакцина против бешенства «Рабиков» производства ФКП «Щелковский биокомбинат» (Россия). Изучение иммуногенных свойств препаратов хитозана проводили на 85–100-суточных самках белых лабораторных мышей массой 21–35 г. Животные были поделены на 37 групп по 6 мышей в каждой. Препараты хитозана применяли подкожно или внутримышечно сочетанно с антирабической вакциной или без таковой. Животным контрольных групп вводили либо физиологический раствор, либо только вакцину. Также была сформирована группа интактных животных. Показано, что хитозан водорастворимый (сукцинат) при подкожном введении, хитозан пищевой (кислоторастворимый) в концентрации 1:64 и выше и хитозан пищевой (водорастворимый) в концентрации 1:10⁶ при подкожном и внутримышечном способах введения повышают уровень поствакцинальных антирабических антител. Таким образом, исследуемые препараты на основе хитозана не оказывают негативного влияния на организм лабораторных животных и обладают иммуногенными свойствами.

Ключевые слова: хитозан, адъювант, вакцинация, иммунопрофилактика, вакцина «Рабиес», вакцина «Рабиков», цитотоксичность, иммунитет, антитела, доклиническое исследование

Благодарности: Работа выполнена на базе кафедры вирусологии и микробиологии имени академика В. Н. Сюрин. В ходе выполнения работы консультативную и практическую помощь оказывали сотрудники ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина.

Для цитирования: Доброскок К. Б., Ярыгина Е. И., Липатова М. С., Калмыкова М. С. Адъювантные свойства производных хитозана при введении мышам антирабической вакцины. *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (2): 177–182. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-2-177-182>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Доброскок Ксения Борисовна, аспирант кафедры вирусологии и микробиологии имени академика В. Н. Сюрин ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина, ул. Академика Скрябина, 23, г. Москва, 109472, Россия, e-mail: dkseny@yandex.ru

Adjuvant properties of chitosan derivatives administered to mice with anti-rabies vaccine

Ksenia B. Dobroskok, Elena I. Yarygina, Maria S. Lipatova, Marina S. Kalmykova

Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA by K. I. Skryabin, 23 Academician Skryabin str., Moscow 109472, Russia

ABSTRACT

Searching for a preparation that would meet all the requirements for modern adjuvants remains a matter of critical importance for specific immunoprophylaxis. Much information is available now on chitosan positive effect, including its effect on the immune response. The article provides results of the preclinical tests for different affordable chitosan-based products. For the test purposes, we took the following three products manufactured by LLC Bioprogress (Shchelkovo, Russia): water-soluble chitosan (succinate) – 2% solution edible chitosan (water-soluble) – 2% solution; edible chitosan (acid-soluble) – 2% solution, as well as anti-rabies vaccine RABIKOV manufactured by Shchelkovo Biocombinat (Russia). Immunogenic properties of chitosan-based products were tested in 85–100-day-old female white laboratory mice weighing 21–35 g. The animals were divided into 37 groups (6 mice in each group). Chitosan-based products were administered subcutaneously or intramuscularly, either together with the anti-rabies vaccine or without it. Animals from the control groups received either saline solution or the vaccine only. There was also a group of intact animals. The experiment demonstrated that the water-soluble chitosan (succinate) administered subcutaneously, acid-soluble edible chitosan (at a concentration of 1:64 and more), and water-soluble edible chitosan (at a concentration of 1:10⁶) administered subcutaneously and intramuscularly increase the level of post-vaccination anti-rabies antibodies. Thus, the tested chitosan-based products do not have any negative impact on the laboratory animals and have immunogenic properties.

Keywords: chitosan, adjuvant, vaccination, immunoprophylaxis, RABIES vaccine, RABIKOV vaccine, cytotoxicity, immunity, antibodies, preclinical tests

© Доброскок К. Б., Ярыгина Е. И., Липатова М. С., Калмыкова М. С., 2024

© ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2024

Acknowledgements: The experiment was done in the Department of Virology and Microbiology named after Academician V. N. Syurin. Advisory and practical assistance during the experiment was provided by the staff of the Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA by K. I. Skryabin.

For citation: Dobroskok K. B., Yarygina E. I., Lipatova M. S., Kalmykova M. S. Adjuvant properties of chitosan derivatives administered to mice with anti-rabies vaccine. *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (2): 177–182. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-2-177-182>

Conflict of interests: The authors declare no conflict of interests.

For correspondence: Ksenia B. Dobroskok, Postgraduate Student, Department of Virology and Microbiology named after Academician V. N. Syurin, Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA by K. I. Skryabin, 23 Academician Skryabin str., Moscow 109472, Russia, e-mail: dkseny@yandex.ru

ВВЕДЕНИЕ

Проблемами эффективной и безопасной специфической профилактики болезней животных занимаются ученые всего мира. Несмотря на достигнутые успехи в производстве вакцин, поиск экономически выгодно-го, безопасного адъюванта, который бы способствовал усилению иммунного ответа, актуален по сей день.

Современные адъюванты должны повышать иммунный ответ (клеточный и/или гуморальный), легко метаболизироваться в организме и быть доступными для массового применения [1, 2].

В настоящее время в мире ведется активное изучение свойств хитозана [3–20]. Его производные широко применяются в фармацевтической промышленности и в ветеринарии. Препараты на основе хитозана проявляют множество биологических эффектов, включая антимикробную и гипохолестеринемическую активность при доставке лекарств. С их помощью увеличивают скорость диссоциации плохо растворимых лекарственных средств, повышают степень их всасывания, регулируют высвобождение лекарственных веществ и создают препараты пролонгированного действия [2]. Также отмечено, что раствор хитозана усиливает как гуморальный, так и клеточный иммунный ответ при подкожном введении вакцин [15]. Также возможно инъекционное введение хитозана в составе лекарственных и вакцинных препаратов [21].

В доступной литературе есть информация по исследованию хитозана в качестве сорбента антигена и стимулятора поствакцинального иммунного ответа [3, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 17, 18, 19, 20, 22]. Прогресс в изучении свойств производных хитозана позволяет предположить, что именно они могут соответствовать основным требованиям, выдвигаемым к современным адъювантам.

Предварительно для подбора оптимальных концентраций препаратов на основе хитозана для введения животным нами были проведены исследования по определению степени цитотоксичности различных разведений испытуемых образцов на перевиваемой культуре клеток почки телят ПТ-80 [6, 11].

Цель данного исследования – изучить адъювантные свойства производных хитозана в различных концентрациях при введении мышам антирабической вакцины.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Хитозан. В качестве исходных были взяты следующие препараты хитозана производства ООО «Биопрогресс» (г. Щелково, Россия), приготовленные на основе физиологического раствора (NaCl 0,9%-й):

– хитозан водорастворимый (сукцинат), 2%-й раствор – препарат № 1;

– хитозан пищевой (водорастворимый), 2%-й раствор – препарат № 2;

– хитозан пищевой (кислоторастворимый), 2%-й раствор – препарат № 3.

Вакцины против бешенства животных:

– вакцина против бешенства «Рабиков» производства ФКП «Щелковский биокомбинат» (Россия);

– вакцина против бешенства «Рабиес» (Intervet International, B.V., Нидерланды) была использована для сравнения протективности с отечественной вакциной «Рабиков» в рамках реализации мероприятий по импортозамещению.

Схема опыта с животными. Для проведения исследования было сформировано 37 однородных групп самок белых лабораторных мышей массой 21–35 г, возрастом 85–100 сут по 6 гол. в каждой, которым вводили исследуемые препараты в объеме 0,3 см³ по схеме, указанной в таблице.

Перед экспериментом все лабораторные животные в течение 14 дней прошли карантинирование. Ежедневно проводили клинический осмотр и контрольное взвешивание подопытных мышей. Через 28 дней с момента введения препаратов животных декапитировали и отбирали патологический материал (органы и сыворотка крови) для дальнейших исследований.

Все эксперименты на животных проводились в строгом соответствии с межгосударственными стандартами по содержанию и уходу за лабораторными животными ГОСТ 33216-2014 и ГОСТ 33215-2014, принятыми Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации, а также согласно требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях.

Индекс массы органов определяли как отношение массы органа к массе тела животного (индекс массы органа = $m_{\text{органа}} / m_{\text{животного}}$).

Определение титра антирабических антител.

С целью выявления адъювантных свойств препаратов хитозана определяли уровень антирабических антител в сыворотке крови лабораторных животных в реакции диффузионной преципитации согласно инструкции к «Набору компонентов для диагностики бешенства животных в реакции диффузионной преципитации (РДП)» производства ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности» (Россия).

Статистическая обработка. Статистическую обработку полученных данных производили с использованием принятой в биологии и медицине стандартной программы Microsoft Excel 2007. Результаты считали достоверными при уровне вероятности $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты предварительных испытаний на культуре клеток ПТ-80 показали, что хитозан пищевой (кислоторастворимый) в разведении 1:4 обладает цитотоксическим действием [6], поэтому в эксперименте на лабораторных животных использовали разведения 1:64 и 1:10⁸.

В течение всего времени наблюдения за мышами отклонений в поведении животных не наблюдали, специфическая смерть отсутствовала. При вскрытии мышей патологических изменений в местах инъекций (наличие воспаления, грануляции и др.) и во внутренних органах отмечено не было [6].

Печень – это орган, реагирующий увеличением размеров при острой токсичности, уменьшением – при хронической токсичности. Поэтому производили расчет индекса массы органа.

Как показано на рисунке 1, у мышей всех групп значения средних индексов массы печени находились в диапазоне от 0,045 до 0,050. Это говорит о том, что исследуемые препараты не обладают острой токсичностью.

Селезенка является крупнейшим лимфоидным органом. Поэтому для оценки реакции иммунной системы на введение исследуемых препаратов рассчитывали индексы массы данного органа подопытных мышей.

Средние индексы массы селезенки животных (рис. 2), определенные для групп № 1–8 и 10–16, или соответствуют значениям, полученным для групп № 19, 20 и 37, или превышают их ($p \leq 0,05$). Это может свидетельствовать о стимулировании работы иммунной системы мышей препаратами хитозана. Однако для группы № 9 средний индекс массы селезенки ниже, чем в контрольных группах. Можно предположить, что хитозан пищевой (водорастворимый) в разведении 1:64 при внутримышечном введении не оказывает выраженного иммуностимулирующего действия.

Для подтверждения адъювантных свойств хитозана следующим этапом исследования было определение уровня антирабических антител в сыворотке крови лабораторных животных в реакции диффузионной преципитации. Результаты эксперимента представлены на рисунке 3.

Полученные данные свидетельствуют о том, что вакцинация лабораторных животных без применения исследуемого вещества (группы № 19 и 20) приводит к выработке антирабических антител в титре 1:32, тогда как подкожное введение хитозана водорастворимого (сукцината) во всех испытуемых концентрациях (группы № 2, 4 и 6) в сочетании с вакциной стимулирует образование антител до уровня 1:64. Хитозан пищевой (кислоторастворимый) во всех исследуемых концентрациях (группы № 13–16) и хитозан пищевой (водорастворимый) в разведении 1:10⁸ (группы № 11 и 12) способствуют выработке антител независимо от способа введения.

При внутримышечном введении хитозана водорастворимого (сукцинат) во всех исследуемых концентрациях (группы № 1, 3 и 5), хитозана пищевого (водорастворимого) при подкожном в разведении 1:4 (группа № 8) и внутримышечном в разведении 1:64 (группа № 9) введении отмечена тенденция к снижению уровня антирабических антител до 1:8 – 1:16. В связи с этим можно предположить, что данные препараты в указанных разведениях и при испытуемых способах

Таблица

Способы введения исследуемых препаратов группам мышей

Table
Routes of administration of the tested products to the mice groups

Препарат	Разведение	Номер группы	Способ введения
Опытные группы			
<i>Препараты с вакциной «Рабиков»</i>			
Препарат № 1	1:4	1	внутримышечно
		2	подкожно
	1:64	3	внутримышечно
		4	подкожно
	1:10 ⁸	5	внутримышечно
		6	подкожно
Препарат № 2	1:4	7	внутримышечно
		8	подкожно
	1:64	9	внутримышечно
		10	подкожно
	1:10 ⁸	11	внутримышечно
		12	подкожно
Препарат № 3	1:64	13	внутримышечно
		14	подкожно
	1:10 ⁸	15	внутримышечно
		16	подкожно
Контрольные группы			
<i>Физиологический раствор</i>			
Физиологический раствор (NaCl 0,9%-й)	–	17	внутримышечно
	–	18	подкожно
<i>Контроль вакцин</i>			
Вакцина «Рабиков»	–	19	подкожно
Вакцина «Рабиес»	–	20	подкожно
<i>Исследуемые препараты без вакцины</i>			
Препарат № 1	1:4	21	внутримышечно
		22	подкожно
	1:64	23	внутримышечно
		24	подкожно
	1:10 ⁸	25	внутримышечно
		26	подкожно
Препарат № 2	1:4	27	внутримышечно
		28	подкожно
	1:64	29	внутримышечно
		30	подкожно
	1:10 ⁸	31	внутримышечно
		32	подкожно
Препарат № 3	1:64	33	внутримышечно
		34	подкожно
	1:10 ⁸	35	внутримышечно
		36	подкожно
Без введения препаратов (интактная)	–	37	–

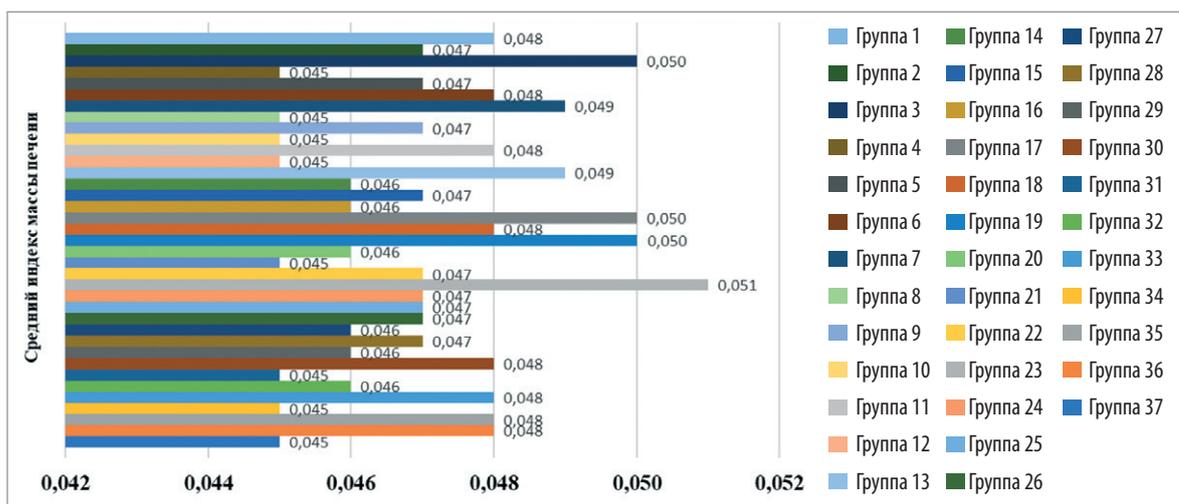


Рис. 1. Сравнение соотношения массы печени к массе тела лабораторных мышей при введении исследуемых форм и концентраций хитозана

Fig. 1. Liver/body weight ratio in the laboratory mice after administration of the tested forms and concentrations of the chitosan-based products

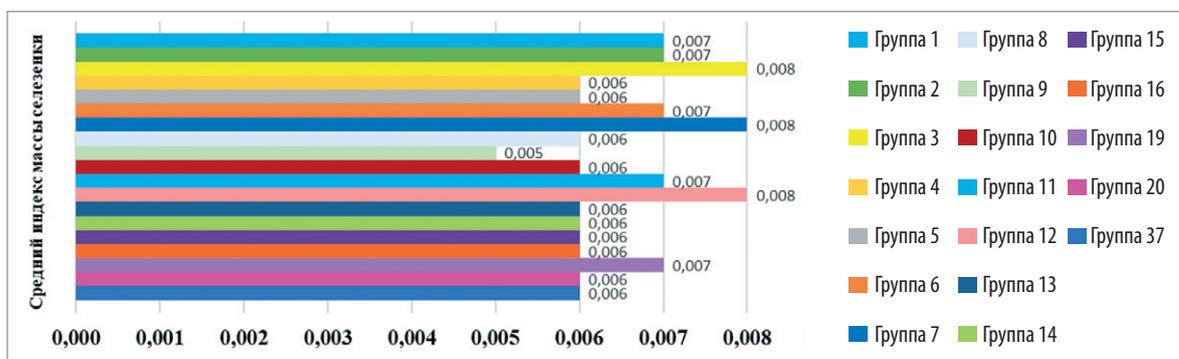


Рис. 2. Сравнение соотношения массы селезенки к массе тела лабораторных мышей при введении исследуемых форм и концентраций хитозана

Fig. 2. Spleen/body weight ratio in the laboratory mice after administration of the tested forms and concentrations of the chitosan-based products

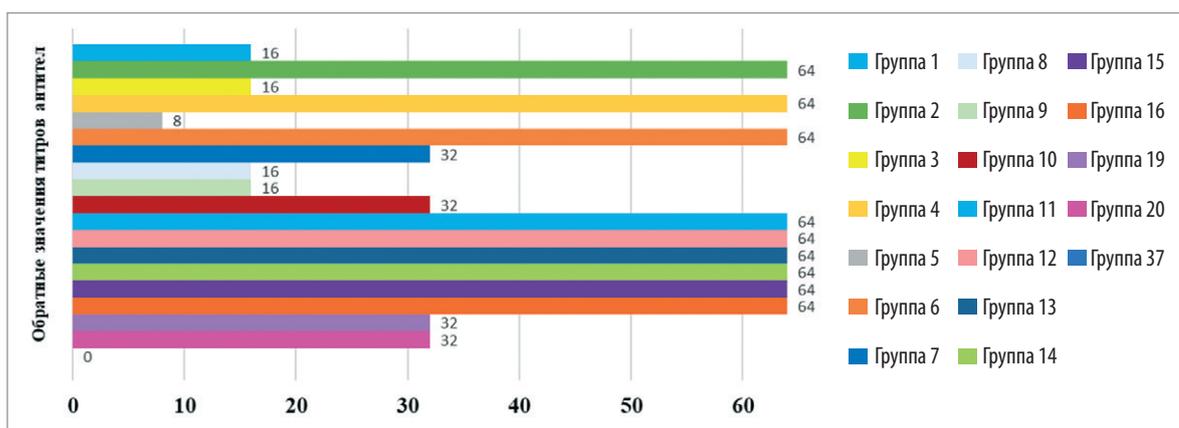


Рис. 3. Титры поствакцинальных антител против антигена вируса бешенства в реакции диффузионной преципитации

Fig. 3. Post-vaccination antibody titres against rabies virus antigen as demonstrated by the diffusion precipitation test

введения угнетают иммунный ответ, так как природные соли хитозана практически нерастворимы при pH выше 6, что может быть проблематичным для доставки вакцинных антигенов, растворимых и стабильных при нейтральном pH или выше [2].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показано, что исследуемые препараты на основе хитозана не оказывают негативного влияния на организм лабораторных животных и обладают иммуногенными свойствами.

В качестве экономически выгодного адъюванта для практического применения можно рекомендовать: хитозан водорастворимый (сукцинат) для подкожного введения; хитозан пищевой (кислоторастворимый) в концентрации 1:64 и выше, а также хитозан пищевой (водорастворимый) в концентрации 1:10⁸ для подкожного и внутримышечного введения. Как показывают результаты наших исследований и других авторов [2], хитозан водорастворимый (сукцинат) при внутримышечном введении и хитозан пищевой (водорастворимый) в концентрациях 1:4 при подкожном и 1:64 при внутримышечном введении снижают эффективность вакцины.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авдеева Ж. И., Алпатова Н. А., Бондарев В. П., Волкова Р. А., Лонская Н. И., Лебединская Е. В. и др. Вакцины с адъювантами. Доклинические исследования. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2015; (1): 15–20. <https://elibrary.ru/ubekft>
2. Самуйленко А. Я., Гринь С. А., Еремец В. И., Албулов А. И., Еремец Н. К., Боровой В. Н. и др. Адъюванты. М.: Август Борг; 2016. 171 с. <https://elibrary.ru/zsdher>
3. Албулов А. И., Фролова М. А., Красочко П. А., Красочко П. П., Гринь А. В., Елисеев А. К. Использование хитозана в качестве адъюванта при производстве вакцинных препаратов. *Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана (Roskhit-23): материалы шестнадцатой Всероссийской конференции с международным участием (Владивосток, 2–6 октября 2023 г.)*. Владивосток: Дальневосточный федеральный университет; 2023; 155–158. <https://doi.org/10.24866/7444-5553-8>
4. Варламов В. П., Ильина А. В., Шагдарова Б. Ц., Луньков А. П., Мысякина И. С. Хитин/хитозан и его производные: фундаментальные и прикладные аспекты. *Успехи биологической химии*. 2020; 60: 317–368. <https://www.fbras.ru/wp-content/uploads/2020/01/8-Varlamov-final.pdf>
5. Доброскок К. Б., Липатова М. С., Ярыгина Е. И. Влияние хитозана сукцината на формирование монослоя культуры клеток ПТ-80. *Сборник научных трудов десятой Всероссийской межвузовской конференции по клинической ветеринарии в формате Purina Partners (Москва, 18 декабря 2020 г.)*. М.: НПО «Сельскохозяйственные технологии»; 2020; 453–460. <https://elibrary.ru/slcelz>
6. Доброскок К. Б., Ярыгина Е. И. Доклинические исследования различных форм хитозана на биологических системах: культуре клеток ПТ-80 и лабораторных мышах. *Актуальные вопросы биологии, биотехнологии, ветеринарии, зоотехнии, товароведения и переработки сырья животного и растительного происхождения: материалы национальной научно-практической конференции (Москва, 1 апреля 2021 г.)*. Часть II. М.: ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина; 2021; 14–16.
7. Курашова С. С., Дзагурова Т. К., Ишмухаметов А. А., Егорова М. С., Баловнева М. В., Соцкова С. Е., Ткаченко Е. А. Адъюванты на основе углеводов для производства вакцин. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2018; 18 (2): 81–91. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-2-81-91>
8. Минькова О. А., Ярыгина Е. И., Бачинская В. М. Влияние препарата хитозана в составе вакцины на продолжительность иммунного ответа у кур. *Вакцины нового поколения для профилактики особо опасных болезней сельскохозяйственных животных: сборник трудов Международной научно-практической конференции (Москва, 10 октября 2023 г.)*. Под общ. ред. С. В. Полябина, Л. А. Гнездиловой. М.: Сельскохозяйственные технологии; 2023; 224–230. <https://elibrary.ru/erolpz>
9. Хантимирова Л. М. Получение хитозана, его производных, изучение их физико-химических характеристик и иммуноадъювантной активности в составе инактивированных вакцин против гриппа: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.; 2019. 24 с.
10. Хантимирова Л. М., Каширина О. С., Черникова М. И., Васильев Ю. М. Сравнительная оценка иммуногенности охарактеризованных препаратов на основе хитозана и других адъювантов в составе инактивированных вакцин против гриппа. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2016; 15 (1): 86–92 с. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2016-15-1-86-92>
11. Ярыгина Е. И., Калмыкова М. С., Третьякова И. В. Изучение цитотоксического действия препаратов на основе хитозана на перевиваемые культуры клеток. *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*. 2019; (8): 40–43. <https://elibrary.ru/vnvdpa>
12. Malik A., Gupta M., Gupta V., Gogoi H., Bhatnagar R. Novel application of trimethyl chitosan as an adjuvant in vaccine delivery. *International Journal of Nanomedicine*. 2018; 13: 7959–7970. <https://doi.org/10.2147/ijn.165876>

13. Choi B., Jo D.-H., Anower A. K. M. M., Islam S. M. S., Sohn S. Chitosan as an immunomodulating adjuvant on T-cells and antigen-presenting cells in herpes simplex virus type 1 infection. *Mediators of Inflammation*. 2016; 2016:4374375. <https://doi.org/10.1155/2016/4374375>
14. Zaharoff D. A., Rogers C. J., Hance K. W., Schlom J., Greiner J. W. Chitosan solution enhances both humoral and cell-mediated immune responses to subcutaneous vaccination. *Vaccine*. 2017; 25 (11): 2085–2094. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.11.034>
15. Younes I., Rinaudo M. Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Marine Drugs*. 2015; 13 (3): 1133–1174. <https://doi.org/10.3390/md13031133>
16. Vázquez J. A., Rodríguez-Amado I., Montemayor M. I., Fraguas J., González M. del P., Murado M. A. Chondroitin sulfate, hyaluronic acid and chitin/chitosan production using marine waste sources: characteristics, applications and eco-friendly processes: A review. *Marine Drugs*. 2013; 11 (3): 747–774. <https://doi.org/10.3390/md11030747>
17. Muzzarelli R. A. A. Chitins and chitosans as immunoadjuvants and non-allergenic drug carriers. *Marine Drugs*. 2010; 8 (2): 292–312. <https://doi.org/10.3390/md8020292>
18. Vasiliev Y. M. Chitosan-based vaccine adjuvants: incomplete characterization complicates preclinical and clinical evaluation. *Expert Review of Vaccines*. 2015; 14 (1): 37–53. <https://doi.org/10.1586/14760584.2015.956729>
19. Gong Y., Tao L., Wang F., Liu W., Jing L., Liu D., et al. Chitosan as an adjuvant for a *Helicobacter pylori* therapeutic vaccine. *Molecular Medicine Reports*. 2015; 12 (3): 4123–4132. <https://doi.org/10.3892/mmr.2015.3950>
20. Xia Y., Fan Q., Hao D., Wu J., Ma G., Su Z. Chitosan-based mucosal adjuvants: Sunrise on the ocean. *Vaccine*. 2015; 33 (44): 5997–6010. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.07.101>
21. Камская В. Е. Хитозан: структура, свойства и использование. *Научное обозрение. Биологические науки*. 2016; (6): 36–42. <https://science-biology.ru/article/view?id=1020>
22. Wen Z. S., Xu Y. L., Zou X. T., Xu Z. R. Chitosan nanoparticles act as an adjuvant to promote both Th1 and Th2 immune responses induced by ovalbumin in mice. *Marine Drugs*. 2011; 9 (6): 1038–1055. <https://doi.org/10.3390/md9061038>

REFERENCES

1. Avdeeva Zh. I., Alpatova N. A., Bondarev V. P., Volkova R. A., Lonskaya N. I., Lebedinskaya E. V., et al. Vaccines with adjuvants. Preclinical studies. *BIOPreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2015; (1): 15–20. <https://elibrary.ru/ubekft> (in Russ.)
2. Samuilenko A. Ya., Grin S. A., Eremets V. I., Albulov A. I., Eremets N. K., Borovoy V. N., et al. Adjuvants. Moscow: Avgust Borg; 2016. 171 p. <https://elibrary.ru/zsdher> (in Russ.)
3. Albulov A. I., Frolova M. A., Krasochko P. A., Krasochko P. P., Grin A. V., Eliseev A. K. Ispol'zovanie khitozana v kachestve ad'yuvanta pri proizvodstve vaktsinnykh preparatov = The use of chitosan as an adjuvant in vaccine production. *Sovremennye perspektivy v issledovanii khitina i khitozana (Roskhit-23): materialy shestnadsatoy Vserossiiskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem (Vladivostok, 2–6 oktyabrya 2023 g.) = Current perspectives on chitin and chitosan (Roskhit-23): Proceedings of the Sixteenth All-Russian Conference with International Participation (Vladivostok, 2–6 October 2023)*. Vladivostok: Far Eastern Federal University; 2023; 155–158. <https://doi.org/10.24866/7444-5553-8> (in Russ.)
4. Varlamov V. P., Il'ina A. V., Shagdarova B. Ts., Lun'kov A. P., Mysyakina I. S. Chitin/Chitosan and its derivatives: Fundamental problems and practical approaches. *Biochemistry (Moscow)*. 2020; 85 (Suppl. 1): 154–176. <https://doi.org/10.1134/S0006297920140084>
5. Dobroskok K. B., Lipatova M. S., Yarygina E. I. The effect of chitosan succinate on the formation of a monolayer of PT-80 cell culture. *Sbornik nauchnykh trudov desyatoi Vserossiiskoy mezhdunarodskoy konferentsii po klinicheskoy veterinarii v formate Purina Partners (Moskva, 18 dekabrya 2020 g.) = Collection of scientific papers of the Tenth All-Russian Interuniversity Conference on Clinical Veterinary Medicine in Purina Partners format (Moscow, December 18, 2020)*. Moscow: NPO "Sel'skokhozyaystvennyye tekhnologii"; 2020; 453–460. <https://elibrary.ru/slcelz> (in Russ.)
6. Dobroskok K. B., Yarygina E. I. Doklinicheskie issledovaniya razlichnykh form khitozana na biologicheskikh sistemakh: kul'ture kletok PT-80 i laboratornykh myshakh = Preclinical studies of various forms of chitosan on biological systems: PT-80 cell culture and laboratory mice. *Aktual'nye voprosy biologii, biotekhnologii, veterinarii, zootekhnii, tovarovedeniya i pererabotki syr'ya zhivotnogo i rastitel'nogo proiskhozhdeniya: materialy natsional'noi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Moskva, 1 aprelya 2021 g.)*. Chast' II = Current issues of biology, biotechnology, veterinary medicine, animal science, commodity science and processing of raw materials of animal and plant origin: proceedings of the national scientific and practical conference (Moscow, April 1, 2021). Part II. Moscow: Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA by K. I. Skryabin; 2021; 14–16 (in Russ.)

7. Kurashova S. S., Dzagurova T. K., Ishmukhametov A. A., Egorova M. S., Balovneva M. V., Sotskova S. E., Tkachenko E. A. Carbohydrate-based adjuvants for vaccine production. *BIOPreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2018; 18 (2): 81–91. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-2-81-91> (in Russ.)
8. Minkova O. A., Yarygina E. I., Bachinskaya V. M. Vliyanie preparata khitozana v sostave vaksiny na prodolzhitel'nost' immunnogo otveta u kur = Effect of the chitosan-based vaccine on the immunity duration in chickens. *Vaksiny novogo pokoleniya dlya profilaktiki osobo opasnykh boleznei sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh: sbornik trudov Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Moskva, 10 oktyabrya 2023 g.). Pod. obshch. red. S. V. Pozyabina, L. A. Gnezdilovoi = Next-generation vaccines for control of highly dangerous diseases in farm animals: proceedings of the International Scientific and Practical Conference (Moscow, October 10, 2023). Ed. by S. V. Pozyabin, L. A. Gnezdilova. Moscow: Sel'skokhozyaistvennye tekhnologii; 2023; 224–230. <https://elibrary.ru/erolzp> (in Russ.)*
9. Khantimirova L. M. Preparation of chitosan and its derivatives, study of their physico-chemical characteristics and immunoadjuvant activity in the composition of inactivated influenza vaccines: Author's abstract of thesis for degree of Cand. Sci. (Biology). M.; 2019. 24 p. (in Russ.)
10. Khantimirova L. M., Kashirina O. S., Chernikova M. I., Vasiliev Y. M. Comparative immunogenicity evaluation of characterized chitosan-based and other adjuvants for inactivated influenza vaccines. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2016; 15 (1): 86–92. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2016-15-1-86-92> (in Russ.)
11. Yarygina E. I., Kalmykova M. S., Tretyakova I. V. Study of cytotoxic effect of drugs based on chitosan for transplantable cell cultures. *Veterinary, Zootechnics and Biotechnology*. 2019; (8): 40–43. <https://elibrary.ru/vnvdpa> (in Russ.)
12. Malik A., Gupta M., Gupta V., Gogoi H., Bhatnagar R. Novel application of trimethyl chitosan as an adjuvant in vaccine delivery. *International Journal of Nanomedicine*. 2018; 13: 7959–7970. <https://doi.org/10.2147/ijn.s165876>
13. Choi B., Jo D.-H., Anower A. K. M. M., Islam S. M. S., Sohn S. Chitosan as an immunomodulating adjuvant on T-cells and antigen-presenting cells in herpes simplex virus type 1 infection. *Mediators of Inflammation*. 2016; 2016:4374375. <https://doi.org/10.1155/2016/4374375>
14. Zaharoff D. A., Rogers C. J., Hance K. W., Schlom J., Greiner J. W. Chitosan solution enhances both humoral and cell-mediated immune responses to subcutaneous vaccination. *Vaccine*. 2017; 25 (11): 2085–2094. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.11.034>
15. Younes I., Rinaudo M. Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Marine Drugs*. 2015; 13 (3): 1133–1174. <https://doi.org/10.3390/md13031133>
16. Vázquez J. A., Rodríguez-Amado I., Montemayor M. I., Fraguas J., González M. del P., Murado M. A. Chondroitin sulfate, hyaluronic acid and chitin/chitosan production using marine waste sources: characteristics, applications and eco-friendly processes: A review. *Marine Drugs*. 2013; 11 (3): 747–774. <https://doi.org/10.3390/md11030747>
17. Muzzarelli R. A. A. Chitins and chitosans as immunoadjuvants and non-allergenic drug carriers. *Marine Drugs*. 2010; 8 (2): 292–312. <https://doi.org/10.3390/md8020292>
18. Vasiliev Y. M. Chitosan-based vaccine adjuvants: incomplete characterization complicates preclinical and clinical evaluation. *Expert Review of Vaccines*. 2015; 14 (1): 37–53. <https://doi.org/10.1586/14760584.2015.956729>
19. Gong Y., Tao L., Wang F., Liu W., Jing L., Liu D., et al. Chitosan as an adjuvant for a *Helicobacter pylori* therapeutic vaccine. *Molecular Medicine Reports*. 2015; 12 (3): 4123–4132. <https://doi.org/10.3892/mmr.2015.3950>
20. Xia Y., Fan Q., Hao D., Wu J., Ma G., Su Z. Chitosan-based mucosal adjuvants: Sunrise on the ocean. *Vaccine*. 2015; 33 (44): 5997–6010. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.07.101>
21. Kamskaya V. E. Chitosan: structure, properties and using. *Scientific review. Biological sciences*. 2016; (6): 36–42. <https://science-biology.ru/ru/article/view?id=1020> (in Russ.)
22. Wen Z. S., Xu Y. L., Zou X. T., Xu Z. R. Chitosan nanoparticles act as an adjuvant to promote both Th1 and Th2 immune responses induced by ovalbumin in mice. *Marine Drugs*. 2011; 9 (6): 1038–1055. <https://doi.org/10.3390/md9061038>

Поступила в редакцию / Received 04.03.2024

Поступила после рецензирования / Revised 03.04.2024

Принята к публикации / Accepted 17.05.2024

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Доброскок Ксения Борисовна, аспирант кафедры вирусологии и микробиологии имени академика В. Н. Сюрин ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина, г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-8029-2725>, e-mail: dkseny@yandex.ru

Ярыгина Елена Игоревна, д-р биол. наук, старший научный сотрудник, профессор кафедры вирусологии и микробиологии имени академика В. Н. Сюрин ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина, г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-4214-039X>, e-mail: jarigina@mail.ru

Липатова Мария Сергеевна, магистр кафедры вирусологии и микробиологии имени академика В. Н. Сюрин ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина, г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-7159-7356>, e-mail: mashunka04@mail.ru

Калмыкова Марина Станиславовна, доцент, канд. вет. наук, доцент кафедры вирусологии и микробиологии имени академика В. Н. Сюрин ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина, г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0009-0003-7900-592X>, e-mail: marina.pcr@mail.ru

Ksenia B. Dobroskok, Postgraduate Student, Department of Virology and Microbiology named after Academician V. N. Syurin, Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA by K. I. Skryabin, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-8029-2725>; e-mail: dkseny@yandex.ru

Elena I. Yarygina, Dr. Sci. (Biology), Senior Researcher, Professor of the Department of Virology and Microbiology named after Academician V. N. Syurin, Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA by K. I. Skryabin, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-4214-039X>, e-mail: jarigina@mail.ru

Maria S. Lipatova, Magister of the Department of Virology and Microbiology named after Academician V. N. Syurin, Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA by K. I. Skryabin, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-7159-7356>, e-mail: mashunka04@mail.ru

Marina S. Kalmykova, Associate Professor, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Associate Professor of the Department of Virology and Microbiology named after Academician V. N. Syurin, Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA by K. I. Skryabin, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0009-0003-7900-592X>, e-mail: marina.pcr@mail.ru

Вклад авторов: Доброскок К. Б. – проведение исследований, статистическая обработка результатов, составление таблиц и диаграмм, подготовка текста статьи; Ярыгина Е. И. – научное руководство, планирование опытов, проведение исследований, подготовка текста статьи; Липатова М. С. – подбор и анализ литературных источников по теме, статистическая обработка результатов, составление таблиц и диаграмм; Калмыкова М. С. – подбор и анализ литературных источников по теме, подготовка текста статьи.

Contribution: Dobroskok K. B. – has conducted the experiment, processed resulting statistics, created tables and diagrams, is an author of the article; Yarygina E. I. – a scientific advisor, responsible for experiment design, has conducted the experiment, is an author of the article; Lipatova M. S. – responsible for selection and analysis of the relevant literature, processed resulting statistics, created tables and diagrams; Kalmykova M. S. – responsible for selection and analysis of the relevant literature; is an author of the article.