



Федеральное агентство научных организаций России
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВЕТЕРИНАРИИ ИМ
Я.Р. КОВАЛЕНКО»

Федоров А.И., Игнатов П.Е., Искандаров М.И., Альбертян М.П.,
Искандарова С.С., Слепцов Е.С., Винокуров Н.В., Федоров В.И.,
Бочкарев И.И.

РАЗРАБОТКА БРУЦЕЛЛЕЗНЫХ ВАКЦИНИРУЮЩИХ СОЕДИНЕНИЙ НА ОСНОВЕ АНТИГЕН-ПОЛИМЕРНЫХ КОМПЛЕКСОВ

Монография

*Светлой памяти профессора
Татьяны Артемовны Шибаловой посвящается*

Новосибирск
2018

УДК 619:616.98

ББК 48.73

P17

*Утвержден к печати протокол № 6 от 10 октября 2017 г.
ученым советом ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский
институт экспериментальной ветеринарии им Я.Р. Коваленко»*

Рецензенты:

Девришов Д.А., доктор биологических наук, профессор, член-корр. РАН, заведующий кафедрой иммунологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина»;

Замьянов И.Д., кандидат ветеринарных наук, руководитель Управления Россельхознадзора по Республике Саха (Якутия).

**Федоров А.И., Игнатов П.Е., Искадаров М.И., Альбертян М.П.,
Искадарова С.С., Слепцов Е.С., Винокуров Н.В., Федоров В.И.,
Бочкарев И.И.**

**P17 «Разработка бруцеллезных вакцинирующих соединений
на основе антиген-полимерных комплексов»: – Монография;
Новосибирск: Изд. АНС «СибАК», 2018. – 118 с.**

ISBN 978-5-4379-0577-7

В данной монографии изложены материалы многолетних исследований по разработке бруцеллезных вакцинирующих соединений на основе антиген-полимерных комплексов. В работе описаны попытки получения и изучения эффективности вакцинирующих противобруцеллезных соединений на основе антиген-полимерных комплексов, обладающих высокой протективной и провоцирующей активностью.

Монография адресована сотрудникам научно-исследовательских учреждений и вузов, магистрам и аспирантам, занимающимся проблемами бруцеллеза сельскохозяйственных животных.

ББК 48.73

ISBN 978-5-4379-0577-7

© Авторский коллектив, 2018

© АНС «СибАК», 2018.

СОДЕРЖАНИЕ:

Введение	8
Глава 1. Основные направления создания бруцеллезных вакцин	10
Глава 2. Антигены бруцелл, их свойства	20
Глава 3. Получение и характеристика экстрацеллюлярного бруцеллезного протективного антигенного комплекса	31
3.1. Экстрацеллюлярный антигенный комплекс, выделенный из вирулентного штамма <i>B. abortus</i> 54	32
3.2. Экстрацеллюлярный антигенный комплекс, выделенный из вакцинных штаммов <i>B. abortus</i> 19, <i>B. melitensis</i> Rev -1	34
3.3. Селекция нового штамма-продуцента экстрацеллюлярного антигенного комплекса и его сравнительная характеристика	35
3.4. Протективные свойства экстрацеллюлярного антигенного комплекса, выделенного из разных штаммов бруцелл	36
3.5. Биохимический анализ экстрацеллюлярного антигенного комплекса бруцелл	38
3.5.1. Фракционирование экстрацеллюлярного антигенного комплекса	38
3.5.2. Изучение низкомолекулярного компонента антигенного комплекса	41
Глава 4. Конструирование и биологические свойства искусственных противобруцеллезных соединений	46
4.1. Испытания конъюгата, полученного на основе сополимера акриловой кислоты и N-винилпирролидона	46

4.2. Противобруцеллезные искусственные соединения на основе конъюгации градекса с протективным антигенным комплексом бруцелл	48
4.2.1. Влияние соотношения полимер-антиген на иммуногенность препарата	48
4.2.2. Испытания препаратов, полученных в разных условиях конъюгации	50
4.2.3. Сравнительное изучение протективной активности конъюгата с коммерческими вакцинами ..	51
4.2.4. Влияние многократных инъекций противобруцеллезного конъюгата на состояние экспериментальных животных	52
4.2.5. Использование искусственных противобруцеллезных соединений для профилактики инфекции, вызываемой <i>B. ovis</i>	53
4.2.6. Экспериментальное изучение активности конъюгата на сельскохозяйственных животных	54
4.3. Изучение активности конъюгатов протективного антигенного комплекса бруцелл с полиоксидонием	56
4.3.1. Испытания конъюгатов на основе полиоксидония против бруцеллеза, вызываемого разными видами бруцелл <i>B. abortus</i> , <i>B. melitensis</i> , <i>B. ovis</i>	56
4.3.2. Определение поствакцинального иммунитета у животных, привитых антиген-полимерной бруцеллезной вакциной	59
4.3.3. Оценка иммунологической безопасности бруцеллезной антиген-полимерной вакцины (БАПВ)	59
4.3.3.1. Аллергенные свойства препарата БАПВ	60
4.3.3.2. Реакция дегрануляции тучных клеток	61

4.3.3.3. Оценка анафилактикогенной активности БАПВ	62
4.3.3.4. Исследование возможности индукции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) при введении БАПВ	63
4.3.3.5. Исследование влияния БАПВ на иммунологическую реактивность	64
4.3.3.5.1. Влияние БАПВ на гуморальный и иммунный ответ к эритроцитам барана	64
4.3.3.5.2. Влияние БАПВ на гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ) к эритроцитам барана	65
4.3.3.5.3. Влияние БАПВ на функциональную активность иммунокомпетентных клеток	67
4.3.3.5.3.1. Влияние БАПВ на макрофаги перинеального экссудата	67
4.3.3.5.3.2. Изучение поликлональной активности БАПВ	68
4.3.3.5.3.3. Изучение пролиферативной активности спленоцитов вакцинированных животных в ответ на Т- и В-клеточные митогены	69
4.3.4. Оценка безвредности и иммуногенной активности бруцеллезной антигенной полимерной вакцины на ограниченной группе добровольцев	72
4.4. Разработка противобруцеллезного соединения на основе ПА и иммуностимулирующего полисахаридного носителя	76
4.4.1. Определение иммунитета, индуцированного препаратом БИВ	76

4.4.2. Определение длительности иммунитета, индуцированного препаратом БИВ при однократном и двукратном введении	77
4.4.3. Определение специфических свойств антигена БИВ, предназначенного для выявления скрытых форм бруцеллеза	78
4.4.4. Применение противобруцеллезной вакцины БИВ и антигена БИВ для оздоровления хозяйств Волгоградской области от бруцеллеза крупного рогатого скота	79
Глава 5. Контроль протективных и антигенных свойств искусственных противобруцеллезных соединений	88
5.1. Оценка протективной активности искусственных противобруцеллезных соединений на мышах	88
5.2. Контроль антигенных свойств противобруцеллезных соединений	90
5.3. Определение провокационной активности антигена БИВ на белых мышах	91
Заключение	93
Список литературы	103
Приложение.....	116

ВВЕДЕНИЕ

Бруцеллез относится к опаснейшим зооантропонозным заболеваниям, широко распространенным во всем мире. Возбудитель бруцеллеза – грамотрицательная бактерия, представленная в настоящее время 12 видами: *Brucella melitensis*, *Brucella abortus*, *Brucella suis*, *Brucella neotomae*, *Brucella ovis*, *Brucella canis*, *Brucella ceti*, *Brucella inopinata*, *Brucella microti*, *Brucella papionis*, *Brucella pinnipedialis*, *Brucella vulpis*. Заболевание наносит большой экономический и социальный ущерб. Одним из важнейших моментов в системе противобруцеллезных мероприятий является специфическая профилактическая вакцинация людей и животных – основного источника инфекционного начала.

Для профилактики бруцеллеза применяют вакцины разных типов: живые и инактивированные (корпускулярные и химические). Существенными недостатками этих вакцин являются реактогенность, сенсibiliзирующая активность, агглютиногенность (способность вакцинного препарата индуцировать синтез антител, улавливаемых коммерческими диагностикумами [122, с. 507]. Трудность дифференциации вакцинального процесса от инфекционного у людей и животных ограничивает широкое использование существующих вакцин [26, с. 16]. Кратковременность противобруцеллезного иммунитета вынуждает проводить ежегодные вакцинации, хотя многократные ревакцинации в ряде случаев вызывают симптомы, сходные с таковыми при латентных и хронических формах бруцеллеза [28, с. 110]. Все вышеперечисленные недостатки сдерживают широкое применение коммерческих вакцин.

В последние годы проведены фундаментальные исследования в области иммунологии, биохимии, молекулярной микробиологии бруцеллеза. Эти разработки существенно расширили представления о механизме иммунных реакций в организме, молекулярной организации и структуре макромолекул различных антигенов. Важным этапом на пути разработки эффективной бруцеллезной вакцины явилось создание химической вакцины, представляющей собой комплекс антигенов. Исследования подобного рода направлены не только на получение иммуногенных препаратов, лишенных недостатков, присущих живым вакцинам, но и на расширение знаний о локализации, свойствах протективных макромолекул антигена и методах его выделения. Однако до сих пор среди исследователей нет единого мнения о том, что является протективным антигеном у бруцелл [157, с. 117]. В качестве протективных антигенов используют О-полисахаридные цепи, гликопротеиды, пептидогликан, белки внешней мембраны.

Существующие в настоящее время химические вакцины, созданные на основе этих протективных антигенов, полностью не удовлетворяют требованиям практической медицины и ветеринарии. По-видимому, это связано с присутствием балластных и токсических веществ, вызывающих побочное действие. Поиск новых очищенных протективных антигенов и способов повышения их иммуногенности до сих пор остается актуальной и современной задачей.

Одним из направлений, предложенным Р.В. Петровым и Р.М. Хаитовым, является разработка антиген-полимерных вакцин. Подходы к созданию таких вакцин открывают широкие перспективы, которые должны кардинальным образом повлиять на развитие иммунопрофилактики. Теоретические проблемы здесь тесно связаны с требованиями практики, где еще раньше возник вполне оправданный интерес к разработке принципиально новых вакцин против еще не побежденных инфекций человека и животных и к существенному повышению эффективности и безвредности препаратов. Как известно, искусственная антиген-полимерная вакцина представляет собой макромолекулярный комплекс, состоящий из специфического антигена и носителя – иммуностимулятора, и, что весьма важно, не должна содержать балластных веществ и примесей.

В работе описаны попытки получения и изучения эффективности вакцинирующих противобруцеллезных соединений на основе антиген-полимерных комплексов.

В работах по выделению антигенов, получению опытных образцов вакцинирующих соединений и их испытаниях в лабораторных условиях и в животноводческих хозяйствах участвовали сотрудники Института иммунологии МЗ РФ (д-р хим. наук., профессор Некрасов А.В., канд. хим. наук Пучкова Н.Г., канд. биол. наук Иванова А.С., д-р хим. наук Свиридов Б.Д.), Северо-Кавказского зонального научно-исследовательского ветеринарного института (д-р вет. наук, профессор Малышева Л.А., канд. вет. наук Харченко А.А.), Нижегородского научно-исследовательского ветеринарного института Нечерноземной зоны РФ (чл.-кор. РАСХН, д-р вет. наук., профессор Сочнев В.В., д-р биол. наук, профессор Григорьева Г.И.) и в лаборатории специисследований и зоонозов Ташкентского научно-исследовательского института микробиологии, эпидемиологии и инфекционных заболеваний МЗ РУз (д-р мед. наук, профессор Джалилов К.Д., канд. мед. наук Иммомалиев У.Н.), а также сотрудники Волгоградского управления ветеринарии (д-р вет. наук, профессор Филиппов Н.В., канд. вет. наук Дубинин В.С., канд. вет. наук Роньшина Н.В.), а также многие другие научные сотрудники и ветеринарные врачи, без которых нельзя было бы выполнить эту работу.

Научное издание

*Федоров А.И., Игнатов П.Е., Искандаров М.И., Альбертян М.П.,
Искандарова С.С., Слепцов Е.С., Винокуров Н.В., Федоров В.И.,
Бочкарев И.И.*

**РАЗРАБОТКА БРУЦЕЛЛЕЗНЫХ
ВАКЦИНИРУЮЩИХ СОЕДИНЕНИЙ
НА ОСНОВЕ АНТИГЕН-ПОЛИМЕРНЫХ
КОМПЛЕКСОВ**

Подписано в печать 24.01.18. Формат бумаги 60x84/16.
Бумага офсет №1. Гарнитура Times. Печать цифровая.
Усл. печ. л. 7,375. Тираж 550 экз.

Издательство АНС «СибАК»
630049, г. Новосибирск, Красный проспект, 165, оф. 4.
E-mail: mail@sibac.info

Отпечатано в полном соответствии с качеством предоставленного
оригинал-макета в типографии «Allprint»
630004, г. Новосибирск, Вокзальная магистраль, 3.