

УДК 619:615.371.619:616-72.636:612.11

Б.А. Еспембетов, Ж.М. Базарбаева, Р.К. Нисанова\*, З.Б. Есимсиитова,  
Н.С. Сырым, Н.Н.Зинина

РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», Казахстан, г. Алматы  
Казахский национальный университет им. Аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы  
\*e-mail: nisanova\_raihan@mail.ru

### Векторная вакцина против бруцеллеза

Была изучена иммуногенная активность впервые разработанной в Казахстане векторной вакцины против бруцеллеза на модели морских свинок. В качестве вектора использованы рекомбинантные вирусы гриппа серотипов H5N1, H1N1, с бруцеллезными вставками OMP 16, L7L12. Проведены серии опытов на морских свинках, где доказана высокая иммуногенная активность векторной вакцины против бруцеллеза. Установлена важность изучения клеточного иммунного ответа при введении противобруцеллезной вакцины, а не гуморального, как ранее было принято считать. Антитела (показатель гуморального иммунного ответа) к бруцеллезным антигенам появляются в крови животных как правило в ответ на заражение, так и в ответ на введение вакцин, изготовленных из бактериальных штаммов *V.abortus*. В работе доказано, что разработанная в НИИПББ векторная вакцина против бруцеллеза не вызывает выработку антител у животного. Определены активности клеточного и гуморального звеньев иммунитета. Проведен сравнительный анализ по индексу инфицированности и иммуногенности, применяемых для специфической профилактики бруцеллеза вакцин с впервые разработанной гриппозной векторной противобруцеллезной вакциной.

**Ключевые слова:** векторная вакцина, бруцеллез, инфекция, профилактика

Б.А. Еспембетов, Ж.М. Базарбаева, Р.К. Нисанова, З.Б. Есимсиитова,  
Н.С. Сырым, Н.Н.Зинина

### Бруцеллезге қарсы векторлық вакцина

Қазақстанда алғаш рет бруцеллезге қарсы векторлық вакцинаның иммуногендік белсенділігі теңіз шошқаларында зерттелді. Вектор ретінде рекомбинантты тұмау вирусінің серотиптері H5N1, H1N1, бруцеллез салымдары OMP 16, L7L12 қолданылды. Теңіз шошқаларында топтық тәжірибелер жүргізілді, бруцеллезге қарсы векторлық вакцинаның жоғары иммуногендік белсенділікке ие екені дәлелденді. Бруцеллезге қарсы вакцинаның клеткалық иммунді жауабының маңыздылығы дәлелденді, бұрын тек гуморальді жағы зерттелген. Антиденелер (гуморальді иммундік жауаптың көрсеткіші) *V.abortus* бактериялық штамдарынан дайындалған вакцинаны енгізу кезінде және бруцеллезбен залалдандырғанда антигендер жауап ретінде жануар қанында пайда болады. БПҒҚҒЗИ –да жасалынған бруцеллезге қарсы векторлық вакцинаны енгізгенде жануарлардың қанында антидене пайда болмайтыны жұмыста дәлелденді. Клеткалық және гуморалдық иммунитеттің белсенділігі анықталды. Арнайы алдын алу бруцеллез вакцинаның және алғаш рет жасалған векторлық бруцеллезге қарсы вакцинаның инфекциялану индексы және иммуногендігі бойынша салыстырмалы сараптама жүргізілді.

**Түйін сөздер:** векторлық вакцина, бруцеллез, инфекция, профилактика

B.A. Espembetov, Zh.M. Bazarbayeva, R.K. Nisanova, Z.B. Yessimsiitova,  
N.S. Syrym, N.N. Zinina

### Vector vaccine against brucellosis

The Immunogenic activity of the first Kazakhstani vector vaccine against brucellosis was studied on guinea pig model. As the vector the recombinant influenza virus serotypes H5N1, H1N1, with Brucellosis inserts OMP 16, L7L12 were used. A series of experiments on guinea pigs proved highly immunogenic activity of the vector vaccine against brucellosis. The results indicate the importance of cellular immune response to administered antibrucellar vaccine and not humoral as it was previously assumed. Antibody (humoral immune response) in brucella antigens appear in the blood of animals usually in response to infection and in response to the introduction of vaccines made from bacterial strains *V.abortus*. The study proved that developed in RI BSP vector vaccine against brucellosis does not cause the

production of antibodies in the animal. The cellular and humoral activity of immunity was determined. A comparative analysis based on the infection index and immunogenicity of the brucellosis vaccine and the first developed antibrucellar influenza vector vaccine was conducted.

**Key words:** vector vaccine, brucellosis, infection, prevention

### Введение

Бруцеллез считается одним из наиболее распространенных в мире зоонозных инфекционных заболеваний [1]. Инфекционное заболевание, вызываемое бактериями рода *Brucella* передается человеку от домашних животных. Бруцеллез у человека называют также ундулирующей (волнообразной) лихорадкой, мальтийской лихорадкой, средиземноморской лихорадкой, болезнью Банга. Возбудителями бруцеллеза у человека являются три вида микроорганизмов: *Brucella abortus*, *B. melitensis* и *B. suis*. Заражение человека бруцеллезом происходит через мясо или молочные продукты от больных животных, а также через непосредственные контакты с ними. Бруцеллы обладают высокой инвазивностью и могут проникать через неповрежденные слизистые покровы; их относят к внутриклеточным паразитам, но они могут также находиться вне клетки. Бруцеллы достаточно устойчивы во внешней среде. Бруцеллы проникают в организм человека через слизистые оболочки или кожные покровы, не оставляя никаких изменений в области входных ворот. Лимфогенным путём возбудители заносятся в регионарные лимфатические узлы и накапливаются в них. С током крови возбудители разносятся по органам, богатым ретикулоэндотелием, и фиксируются в них (фаза полиочаговых локализаций). Происходит активация макрофагальной системы, в органах и тканях развиваются диффузные изменения, формируются очаговые скопления макрофагов с внутриклеточно паразитирующими в них бруцеллами; в клинической картине проявляются признаки очаговых поражений со стороны опорно-двигательной, нервной и других систем. Последующие эпизоды выхода возбудителей в кровяное русло поддерживают бактериемию и эндотоксинемию, придают заболеванию волнообразный характер.

Ежегодно регистрируют около 500 тыс. новых случаев, хотя истинная частота распространения бруцеллеза у людей не известна. К сожалению, наша страна сегодня занимает одно из ведущих мест по распространенности этого заболевания среди людей – третье после Испании

и Кыргызстана. В последние годы в Казахстане регистрируется ежегодно 2500-3500 случаев болезни (в соседней России с населением в десять раз больше, чем в Казахстане, всего 300-400 случаев) [2].

Профилактика и борьба с бруцеллезом основаны на проведении комплекса ветеринарно-санитарных и медико-санитарных мероприятий, направленных на снижение и ликвидацию заболеваемости бруцеллезом сельскохозяйственных животных. Поголовье животных в неблагополучных зонах необходимо систематически обследовать на бруцеллез с помощью серологических и аллергологических тестов для своевременного выявления и ликвидации больных животных. В качестве вспомогательной меры в эндемичных по бруцеллезу регионах проводят активную иммунопрофилактику бруцеллеза животных введением живой вакцины. Против бруцеллеза в разное время было предложено значительное количество убитых и живых вакцин (высоагглютиногенных штаммов -*B. abortus* 19, *B. melitensis* Rev – 1; высокоректогенного, abortогенного -*B. abortus* 82; слабоиммуногенного – *B. abortus* RB-51 в R-форме, и т.д.). Одним из важнейших недостатков данных вакцин является невозможность дифференциации вакцинированных животных от естественно зараженных бруцеллезом и то, что они не безопасны для людей [3].

С целью устранения этих недостатков ежегодно разрабатываются новые вакцины против бруцеллеза, такие как ДНК-вакцины, векторные вакцины.

Для решения актуальной задачи борьбы с бруцеллезом в НИИПББ разработана технология изготовления векторной вакцины против бруцеллеза, не имеющая аналогов в мире [4].

### Материалы и методы исследования

Материалом служили вирусные векторы с конструкциями Flu-NS1-124-Omp16 (H5N1, H1N1), Flu-NS1-124-L7/L12 (H5N1, H1N1); вакцинные штаммы *Brucella abortus* 19 и RB-51; морские свинки с живой массой 300-350 граммов, сформированные в семь групп по семь особей в каждой группе. Иммунизацию проводили

подкожно в паховую область. Реиммунизацию проводили через 28 суток после иммунизации, при этом еженедельно отбиралась кровь у морских свинок из ушной вены для серологических исследований. Через 3 месяца момента иммунизации, животных заражали культурой вирулентного штамма

*V. abortus* 544. Спустя месяц со дня контрольного заражения проводили эвтаназию методом тотального обескровливания морских свинок с последующими исследованиями органов. Посевы органов инкубировали в течение 15 суток с 3-кратным просмотром роста бруцелл с интервалом в 5 суток. Индекс инфицированности (ИИ), иммуногенность определяли по высеваемости бруцелл из органов. Результаты бактериологического исследования оценивали по количеству морских свинок, от которых не выделены культуры (эффективность вакцинации), по количеству культур на одну заразившуюся свинку (ИИ). Серологические, гематологические проводили по общепринятым методикам. Иммунофенотипический анализ субпопуляций лимфоцитов проводили на проточном цитофлуориметре FACS Calibur фирмы «Becton Dickinson» (Бельгия) с использованием программы CellQuest [4].

#### **Результаты исследований и обсуждение**

Результаты опытов, проведенных на морских свинках, иммунизированных кандидатами – вакцин с последующим заражением шт. *V. abortus* 544 показывают, что гриппозная векторные вакцины, экспрессирующие бруцеллезные белковые детерминанты Omp 16 и L7L12 (H5N1 и H1N1) обладают достаточно высокой иммуногенной активностью в сравнении с вакцинами из штаммов *V. abortus*. Это подтверждается не только количеством устойчивых к заражению животных, но и выраженностью иммунологических реакций.

#### **Литература**

- 1 Корбэл М. Ж. Бруцеллез: Обзор. *Emer Infect Dis* 1997;3:213–21.
- 2 Бруцеллез. На грани эпидемии // Агро Инфо Информационно-рекламная аграрная газета Рубрика: Ветеринария. 2013 г.
- 3 Шари Г. Г., Сриранганесен Н., Корбэл М. Ж. Бруцеллезные вакцины: прошлое, настоящее и будущее // *Вет Микробиология*. – 2002. – В. 90. – Р. 479-496.
- 4 Б.А. Еспембетов, Н.С. Сырым, Р.К. Нисанова и др. Оценка иммуногенности векторной противобруцеллезной вакцины на модели морских свинок // сборник конференции // Инновационное развитие науки в обеспечении биологической безопасности, посвященная 55-летию Научно-исследовательского института проблем биологической безопасности.
- 5 Табынов К., Кыдырбаев Ж., Рыскельдинова Ш., Еспембетов Б., Зинина Н., Асанжанова Н., Кожамкулов Е., Инкарбеков Д., Гоцкина Т., Сансызбай А. Новые вирусные гриппозные векторы, экспрессирующие белки *Brucella* L7/L12 или OMP 16 у крупного рогатого скота индуцирующие сильный иммунный ответ Т-клеток, а также высокую защищенность против инфекции *V. Abortus* // вакцины. DOI 10,1016 / x. Вакцина. 2014.02.058

Установлена важность изучения клеточного иммунного ответа при введении противобруцеллезной вакцины, а не гуморального, как ранее было принято считать. Антитела (показатель гуморального иммунного ответа) к бруцеллезным антигенам появляются в крови животных как правило в ответ на заражение, так и в ответ на введение вакцин, изготовленных из бактериальных штаммов *V. abortus*. Поэтому, вопрос о дифференциации иммунизированного от больного бруцеллезом животного на сегодняшний день очень актуален, так как зачастую сотни и тысячи голов крупного рогатого скота ежегодно в нашей стране приходится забивать, полагаясь на результаты позитивных серологических тестов. В работе доказано, что разработанная в НИИПБ векторная вакцина против бруцеллеза не вызывает выработку антител у животного. Учитывая, что животноводству в Казахстане отводится огромная роль, применение данной вакцины в корне решает многолетний вопрос дифференциации и отбраковки больных животных от здорового поголовья.

В результате проведенных исследований было установлено, что образцы вакцин обеспечивают иммунологическую защиту морских свинок от заражения эталонным шт. *V. abortus* 544. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что векторная вакцина обладает высокой иммуногенной активностью. Вакцинация животных, разработанной в НИИПБ векторной вакциной позволит решить главнейшую задачу специфической профилактики бруцеллеза, а именно проводить дифференциацию вакцинированных животных от зараженных бруцеллезом.

Векторная вакцина, разработанная в НИИПБ прошла серию испытаний с положительными результатами на крупном рогатом скоте [5].

**Reference**

- 1 Corbel M. J. Brucellosis: an Overview. *EmerInfectDis* 1997;3:213–21.
- 2 Brucellosis. On the verge of an epidemic // *Agro info information and advertising agricultural newspaper Topic: Veterinary science*. 2013 y.
- 3 Schurig G.G., Sriranganathan N., Corbel M.J. Brucellosis vaccines: past, present and future // *Vet Microbiol.* – 2002. – V. 90. – P. 479-496.
- 4 B.A. Espembetov, N.S.Syrym, R.K. Nissanova etc. Evaluation of immunogenicity of vaccine vector antibrucellar guinea pig model // compilation Conference // *Innovative development of science in biological safety, dedicated to the 55th anniversary of the Research Institute for Biological Safety Problems*.
- 5 Tabynov K, KydyrbayevZh, RyskeldinovaSh, Yespembetov B, Zinina N, Assanzhanova N, Kozhamkulov Y, Inkarbekov D, Gotskina T, Sansyzbay A. Novel influenza virus vectors expressing Brucella L7/L12 or Omp 16 proteins in cattle induce a strong T-cell immune response, as well as high protectiveness against *B. abortus* infection // *Vaccine*. DOI 10.1016/j. vaccine. 2014.02.058