

методической конференции патологоанатомов ветеринарной медицины, Уфа, 17–19 сентября 2003 года. – Уфа : Башкирский государственный аграрный университет, 2003. – С. 139-141.

УДК 619.579.62

ИЗУЧЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ И ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МИКОБАКТЕРИАЛЬНЫХ ФРАКЦИЙ *M. BOVIS*

**Мясоедов Ю.М., Найманов А.Х., Искандаров М.И., Федоров А.И.,
Искандарова С.С., Толстенко Н.Г., Вангели Е.П.**

ФГБНУ «Федеральный научный центр - Всероссийский научно-исследовательский

институт экспериментальной ветеринарии им. К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук», г. Москва, Российская Федерация

*Из культуральной жидкости *M.bovis*, при помощи метода мембранного фракционирования, получены две микобактериальные фракции, изучены их биохимические и иммунобиологические характеристики. Выявлено, что на показатели специфичность и активность микобактериальных фракций оказывает влияние содержания полисахаридов. Увеличение содержания полисахаридов сопровождается сниженной специфичностью, и наоборот. Микобактериальная фракция с пониженным содержанием полисахаридов может быть использована для приготовления туберкулина. **Ключевые слова:** микобактериальные фракции, *M. bovis*, туберкулин для млекопитающих, протеины, полисахариды, биологическая активность, специфичность.*

STUDY OF BIOCHEMICAL AND IMMUNOBIOLOGICAL PROPERTIES OF MYCOBACTERIAL FRACTIONS OF *M. BOVIS*

**Myasoedov Y.M., Naimanov A.H., Iskandarov M.I., Fedorov A.I., Iskandarov S.S.,
Tolstenko N.G., Vangeli E.P.**

Federal Scientific Center - All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Skryabin and Ya.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

*Two mycobacterial fractions were obtained from the culture liquid of *M. bovis* by the method of membrane fractionation, their biochemical and immunobiological characteristics were studied. It was revealed that the specificity and activity of mycobacterial fractions are affected by the content of polysaccharides. An increase in the polysaccharide content is accompanied by a decrease in specificity, and vice versa. The fraction of mycobacteria with a reduced content of polysaccharides can be used to prepare tuberculin. **Keywords:** mycobacteria fractions, *M. bovis*, mammalian tuberculin, proteins, polysaccharides, biological activity, specificity.*

Введение. В соответствии общепринятого подхода, туберкулин для млекопитающих изготавливают из культурального фильтрата *M. bovis*, содержащего растворимые микобактериальные компоненты клеток, а также продукты жизнедеятельности микобактерий. При изготовлении очищенного туберкулина, на различных технологических этапах, происходит концентрация и очистка туберкулиновых фракций. При этом, производимые фракции являются поликомпонентными биохимическими соединениями. Основной задачей при разработке и совершенствовании способов изготовления туберкулина является очистка целевых (наиболее активных и специфичных) иммуногенных белков от балластных соединений [1].

При изготовлении очищенного аллергена могут быть использованы различные методические подходы, например, использование фильтрующих систем, с различным отсекающим молекулярным диапазоном [2]. Данный подход в современных условиях развития методов очистки белков является наиболее целесообразным. При использовании данного подхода, в зависимости от молекулярного диапазона фракционирования, получается несколько фракций, детальное изучение биохимических и иммунобиологических свойств позволит определить спектр их возможного использования.

Целью исследования являлось изучение биохимических и иммунобиологических свойств микобактериальных фракций *M. bovis*, полученные при использовании методов мембранного фракционирования, позволяющее определить спектр использования для диагностики микобактериальных инфекций.

Материалы и методы исследований. Биохимические параметры микобактериальных фракций оценивали: методом Хагедорна-Иенсена - содержание полисахаридов [3]; М. А. Губерниева, И. Г. Ковырева - содержание нуклеиновых кислот [4]; Aronson - содержание липидов [5]; Кьельдаля – концентрация протеинов [6].

Иммунобиологические параметры микобактериальных фракций (активность и специфичность) оценивали в соответствии ГОСТ 32306-2013 [6].

Результаты исследований. Дизайн исследования включал: выращивание культуры микобактерий бычьего типа в синтетической питательной среде, в течение 60 суток, при температуре 37,5 °С, этапы химической очистки, а также фильтрации с различным диапазоном молекулярных масс.

В результате мембранного фракционирования получены две фракции. Фракции оценивали по следующим параметрам: процентному содержанию протеинов, процентному содержанию полисахаридов, процентному содержанию липидов, процентному содержанию нуклеиновых кислот, а также биологической активности и специфичности. Исследования проведены в трёх повторностях. Результаты исследования представлены в таблице.

Анализ биохимических параметров демонстрирует значимую разницу по содержанию протеинов (процентное содержание больше во фракции 1, в сравнении с фракцией 2), содержанию полисахаридов и липидов (процентное содержание больше во фракции 2, в сравнении с фракцией 1). Изучение иммунобиологических параметров также продемонстрировало различия. Так биологическая активность и специфичность фракции 2 была достоверно больше, в сравнении с фракцией 1. При этом более высокие значения

параметра специфичность свидетельствуют о сниженной диагностической ценности фракции 2, при использовании как микобактериального аллергена. Содержание нуклеиновых кислот было несколько выше в первой туберкулиновой фракции. Анализируя полученные данные, указанная зависимость обусловлена повышенной концентрацией полисахаридов (повышенная активность и сниженная специфичность). Детальный анализ полученных результатов позволяет связать специфичность фракции с концентрацией полисахаридов и протеинов, так как известно, что липиды и нуклеиновые кислоты не влияют на интенсивность кожной туберкулиновой реакции.

Полученные фракции могут быть использованы при изготовлении различных иммунобиологических препаратов. Так фракция 1 может быть использована при изготовлении очищенного туберкулина, в то время как фракция 2 не может для изготовления аллергена.

Таблица - Биохимические и иммунобиологические параметры микобактериальных фракций

Микобактериальная фракция (№ опыта)	Характеристики микобактериальных фракций <i>M. bovis</i>					
	Протеины, %	Полисахариды, %	Липиды, %	Нуклеиновые кислоты, %	Биологическая активность, МЕ/мг	Специфичность, %
1 (№1)	82,5	2,45	3,23	2,30	10200	4,0
2(№1)	66,9	8,0	10,0	2,0	16870	12,0
1 (№2)	77,0	3,2	4,0	1,9	8000	2,0
2(№2)	80,0	8,0	6,0	0,8	12500	16,0
1 (№3)	72,0	3,0	2,0	1,2	7800	1,9
2 (№3)	60,0	12,0	9,0	0,9	14800	14,5

Заключение. Из культуральной жидкости *M.bovis* получены две микобактериальные фракции, изучены их биохимические и иммунобиологические характеристики. Показано, что содержание полисахаридов влияет на специфичность микобактериальных фракций: увеличение содержания полисахаридов сопровождается снижением специфичности, но повышением активности, а снижение содержания полисахаридов характеризуется увеличением специфичности, но снижением активности. Микобактериальная фракция с пониженным содержанием полисахаридов может быть использована для приготовления туберкулина.

Литература. 1. Безгин, В. М. Промышленная технология производства биологических препаратов для диагностики туберкулеза и лейкоза крупного рогатого скота : дисс. ... докт. биол. наук : 03.00.04 и 03.00.23 / В. М. Безгин ; ВНИИ ветеринарии им. Я. П. Коваленко. - Москва, 1999.- 51 с. 2. Патент РФ № 2113233 С1 Российская Федерация, МПК 6 А 61 К 39/04, 39/35. Способ получения туберкулина: заявл. 04.07.1997, опубли. 20.06.1998. - 7 с. 3. Шамахмудов, Ш. Ш. Фотометрическое определение количества сахара в

крови методом Хагедорна- Иенсена / Ш. Ш. Шамахмудов // Лабораторное дело. - Москва. – 1966. - № 1. - С. 16-17. 4. Асатиани, В. С. Методы биохимических исследований / В. С. Асатиани. – Москва : Медицина, 1956. - С. 211-212. 5. Модель, Л. М. Биология туберкулезных микобактерий и иммунология туберкулеза / Л. М. Модель. – Москва : Медицина, 1958. - 191 с. 6. ГОСТ 32306-2013. Туберкулины очищенные (ППД) для животных. Технические условия. – Москва : Стандартинформ, 2013. -16 с.

УДК 619:578. 831.3

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА АНТИГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ЖИВОЙ И ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА УТЯТ ТИПА I

Никитина Н.В., Трубицын М.М.

*ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства» – филиал ФГБНУ ФНЦ «ВНИТИП», Санкт-Петербург, г. Ломоносов, Российская Федерация

*В борьбе с вирусным гепатитом утят типа I важная роль отведена специфической профилактике. В статье приведены результаты по изучению сравнительной оценки антигенности живой и инактивированной вакцин против этой болезни. Показано, что инактивированная эмульгированная вакцина обладает выраженной антигенной активностью и индуцирует у однократно привитых уток образование высокого уровня специфических антител к вирусу гепатита утят типа I. Вакцина может быть широко использована для специфической профилактики болезни в стационарно неблагополучных хозяйствах. **Ключевые слова:** антиген, антитела, вакцина, вирусный гепатит утят типа I.*

COMPARATIVE ASSESSMENT OF ANTIGENIC ACTIVITY OF LIVE AND INACTIVATED VACCINE AGAINST DUCKLINGS TYPE I VIRAL HEPATITIS

Nikitina N.V, Trubitsyn M.M.

*All-Russian Research Veterinary Institute of Poultry Science - Branch of the Federal State Budget Scientific Institution Federal Scientific Center «All-Russian Research and Technological Poultry Institute», St. Petersburg - Lomonosov, Russian Federation

Specific prevention havean important role in the control of duck viral hepatitis type I. The article presents the results of a comparative evaluation of the antigenicity of live and inactivated vaccines against this disease. There was shown that the inactivated emulsified vaccine has a pronounced antigenic activity and induces the formation of a high level of specific antibodies to its causative agent. The vaccine can be widely used for specific disease prevention in permanently affected farms. **Keywords:** antigen, antibodies, vaccine, duck viral hepatitis type I.