

Значение клеточных факторов иммунитета при применении экологически безопасной сплит-конъюгированной противобруцеллёзной вакцины в сочетании с иммуномодуляторами

© 2020. Д. Абдессемед¹, к. в. н., ассистент, В. А. Агольцов², д. в. н., профессор, С. Ю. Веселовский², к. в. н., доцент, О. М. Попова², д. б. н., декан, Е. С. Красникова³, д. в. н., профессор, А. М. Семиволос², д. в. н., профессор, Д. А. Девришов⁴, д. б. н., заведующий кафедрой,

¹Университет Батна 1,
72060, Алжир, г. Батна, п. Эззуур, Кооператив Эль мюстакбель, д. 17,
²ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ,
410012, Россия, г. Саратов, ул. Театральная площадь, д. 1,
³ФГБОУ ВО Мичуринский ГАУ,
393760, Тамбовская обл., г. Мичуринск, ул. Интернациональная, д. 101,
⁴ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина,
109472, Россия, г. Москва, ул. Академика Скрябина, д. 23а,
e-mail: bd_dalia@hotmail.com, Agoltsov-Saratov@yandex.ru, davud@mgavm.ru

Одним из ключевых вопросов безопасности окружающей среды является свобода её от патогенов, главным образом, от возбудителей особо опасных инфекций, общих для человека и животных. Известно, что микроорганизмы попадают в окружающую среду не только с экскретами больных животных и людей, но и в результате формирования нестерильного иммунитета при применении живых вакцин. В этой связи, разработка экологически безопасных вакцин, обладающих высокими иммуногенными свойствами, является актуальной задачей современной науки. В статье приведены результаты исследований экологически безопасной сплит-конъюгированной вакцины против бруцеллёза животных, которая является перспективным препаратом для профилактики данного зооноза. Наивысшие фагоцитарная и дыхательная активности иммунных клеток крови были отмечены спустя 14 суток после иммунизации животных. Самые высокие фагоцитарный индекс (51), фагоцитарное число (2,1) и концентрация формазана в 1-м лимфоците (0,0342) были зафиксированы у животных, привитых сплит-конъюгированной вакциной против бруцеллёза при использовании фоспренила. При этом отмечался резкий подъём значений этих показателей и быстрое снижение. Это свидетельствует об активном формировании клеточного иммунного ответа. Применение полипептида С совместно со сплит-антигенами характеризовалось менее выраженной и более плавной динамикой данных показателей. При иммунизации сплит-антигенами без иммуномодулятора и иммунопротектора было отмечено незначительное и непродолжительное увеличение изучаемых параметров клеток. Это позволяет рекомендовать фоспренил в качестве усилителя иммунного ответа на вакцинацию данными антигенами. После проведённых испытаний установлено, что исследуемая вакцина формирует в организме животных клеточный иммунитет и, являясь инактивированной (убитой), не представляет никакой опасности для окружающей среды в вопросах распространения бруцеллёза.

Ключевые слова: экологическая безопасность, сплит-конъюгированная вакцина против бруцеллёза животных, фоспренил, полипептид С.

Importance of cellular immunity factors in application of the environmentally safe split-conjugated anti-brucellosis vaccine in combination with immunomodulators

© 2020. D. Abdessemed¹ ORCID: 0000-0003-4452-7827^{*}

V. A. Agoltsov² ORCID: 0000-0001-6991-7253^{*}, S. Yu. Veselovsky² ORCID: 0000-0002-4932-0529^{*}

O. M. Popova² ORCID: 0000-0002-3534-5370^{*}, E. S. Krasnikova³ ORCID: 0000-0003-4395-5862^{*}

A. M. Semyvolos² ORCID: 0000-0003-2081-2340^{*}, D. A. Devrishov⁴ ORCID: 0000-0002-1747-2800^{*}

¹University of Batna 1,

17, Cooperative El moustakbel, Ezzouhour, Batna, Algeria, 72060,

²Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov,

1, Teatralnaya Ploshchad, Saratov, Russia, 410012,

³FSBEI HE Michurinsk SAU,
101, Internationalnaya St., Michurinsk, Tambov region, Russia, 393760,

⁴Moscow state academy of veterinary medicine and biotechnology named K. I. Skryabin,
23a, Akademika Skryabina St., Moscow, Russia, 109472,
e-mail: bd_dalia@hotmail.com, Agoltsov-Saratov@yandex.ru, davud@mgavm.ru

The key issue of environmental safety is the absence of pathogens, mainly infectious agents of common to humans and animals' dangerous diseases. It is known that microorganisms enter the environment not only with the excretions of sick animals and people, but also as a result of the formation of non-sterile immunity when using live vaccines. In this regard, the development of high immunogenic environmentally safe vaccines is an urgent task of modern science. This work presents the results of studies of environmentally safe split-conjugated vaccine against animal brucellosis, which is a promising drug for preventing this zoonosis. The highest phagocytic and respiratory activity of immune blood cells was observed 14 days after animal immunization. The highest phagocytic index (51), phagocytic number (2.1) and formazan's concentration in one lymphocyte (0.0342) were recorded in animals vaccinated with split-conjugated brucellosis vaccine using fosprenil. Sharp increase in the values of these indicators and a rapid decline were registered. This indicates the active formation of cellular immune response. Using of polypeptide C together with split antigens was characterized by less pronounced and smoother dynamics of these indicators. After immunization with split antigens without immunomodulator and immunoprotector, a slight and short increase in the studied cell parameters was noted. This allows us to recommend fosprenil as an amplifier of the immune response to vaccination with these antigens. Tests revealed that the tested vaccine produces in animals' cellular immune response, and being inactivated (killed) does not pose any danger to the environment in the spread of brucellosis.

Keywords: environmental safety, split-conjugated vaccine against animal brucellosis, fosprenyl, polypeptide C.

Одним из ключевых вопросов безопасности окружающей среды (ОС) является свобода её от патогенов, главным образом, от возбудителей особо опасных инфекций, общих для человека и животных. Известно, что микроорганизмы попадают в ОС не только с экскретами больных животных и людей, но и в результате формирования нестерильного иммунитета при применении живых вакцин. Однако применение живых вакцин чревато негативными последствиями. Примером данному обстоятельству может служить неожиданная реверсия вакцинного штамма *Bacillus anthracis* STI – 1, который с 1942 по 1983 г. использовался для изготовления сибиреязвенной вакцины, в вирулентную форму возбудителя. Применение данной вакцины в 1983 г. привело к массовой гибели овец и обильному обсеменению ОС спорами возбудителя. Территория была признана экологически не безопасной, на ней была проведена огромная работа по дезинфекции животноводческих помещений и значительных площадей, включающих места выпаса животных. Другим примером может служить неконтролируемое применение живой вакцины против эмфизематозного карбункула на основе вакцинного штамма *Clostridium chauvoei* 2/14, которое привело к эпизоотии в 90-е годы XX века. *Clostridium chauvoei* также, как и *Bacillus anthracis* – почвенный микроорганизм, сохраняющийся в споровой форме десятилетиями. Почва для этих бактерий является естественной средой обитания. Однако в этих условиях возможны

реверсии и обретение данными микробами прежних свойств, которыми они обладали до аттенуации [1, 2].

Для специфической профилактики такого заболевания, как бруцеллёз, в настоящее время применяют только живые вакцины: из штаммов *Brucella abortus* 19 и *B. abortus* 82 для вакцинации крупного рогатого скота и из штамма *B. melitensis* Рев-1 для иммунизации овец и коз. Возбудитель бруцеллёза, также как и его вакцинные штаммы крайне устойчивы во внешней среде. В почве, воде, навозе, грубых кормах возбудитель может оставаться жизнеспособным в течение 4 месяцев, представляя собой значительную экологическую угрозу, так как за этот период времени вакцинный штамм может обрести новые свойства, в том числе и способность вызывать бруцеллёз у людей и животных. Испытанная нами вакцина приготовлена из отдельных иммуногенных компонентов инактивированного штамма, конъюгированных в общую субстанцию и депонированная адьювантом. При возможном попадании такой вакцины во внешнюю среду реверсия бруцелл невозможна. Следовательно, использование убитых вакцин против бруцеллёза животных является экологически безопасным способом борьбы с инфекцией, поскольку такие вакцины не могут участвовать в поддержании эпизоотического неблагополучия местности, так как их штаммы являются нежизнеспособными [3, 4].

Однако прежде, чем рекомендовать субъединичную вакцину в качестве адекватной

замены живой вакцины, необходимо экспериментальным путём доказать её иммуногенность и определить пути повышения иммунного ответа на её введение. Большинство учёных считает, что наибольшее значение в формировании противобруцеллёзной защиты имеют клеточные факторы иммунитета [5]. В формировании клеточного иммунитета особую роль выполняют макрофаги, нейтрофилы, натуральные киллеры, антиген-специфичные цитотоксические Т-лимфоциты, и в ответ на антиген выделяются цитокины [6]. Способствуют активации клеточного иммунитета различные иммуномодуляторы, которые активизируют нейтрофилы и моноциты, участвующие в фагоцитозе [7]. Наиболее распространёнными иммуномодуляторами, применяемыми в медицине и ветеринарии, являются гамовит [8], полиоксидоний [9, 10], а также в последнее время и фоспренил [11]. Использование полиоксидония чаще всего применимо в отношении человека, а гамовит и фоспренил используются в основном на мелких непродуктивных животных. В последнее время тенденция к использованию иммуномодуляторов в сочетании с вакцинами находит всё большее распространение. Подобный комплекс используется чаще всего с целью усиления как гуморального, так и клеточного иммунитета [12].

Целью исследования явилась сравнительная оценка эффективности применения иммунопротектора полипептида С и иммуномодулятора фоспренила при использовании экологически безопасной сплит-конъюгированной вакцины против бруцеллёза животных.

Материал и методы исследований

В эксперименте использовались 5-6-и месячные тёлочки ($n = 18$) чёрно-пёстрой породы, живой массой 100–150 кг. Животные были разделены на три группы по 6 голов в каждой по принципу аналогов, находились на выгульном содержании и полноценном рационе. Тёлочкам первой группы (I) в дозе 2,0 мл подкожно вводили сплит-конъюгированную вакцину против бруцеллёза животных (заявка на изобретение № 2017110713), содержащую очищенные иммуногенные белки и полипептиды, выделенные из штаммов *Brucella melitensis* Rev-1, *B. bovis* 19 и *B. abortus* 104М, сорбированные на гель гидроксиды алюминия и конъюгированные с протектором иммунного ответа – используемым в качестве растворителя полипептидом С.

Для телят второй группы (II) в качестве растворителя сплит-антигенов использовали физиологический раствор, вакцину вводили однократно подкожно в дозе 2,0 мл, а в качестве иммуномодулятора в область крупа внутримышечно вводили фоспренил в дозе 5,0 мл. Телятам третьей группы (III) проводилась иммунизация сплит-антигенами, разведёнными изотоническим раствором натрия хлорида в дозе 2,0 мл подкожно однократно без применения протекторов и модуляторов иммунного ответа.

До вакцинации, а затем через 14, 30 и 90 сут осуществляли аспирацию крови из ярёмной вены телят с использованием стерильных вакуумных систем с антикоагулянтом КЗЭДТА с целью определения фагоцитарной активности лейкоцитов и жизнеспособности лимфоцитов крови.

Фагоцитарную активность лейкоцитов изучали *in vitro* путём инкубации 0,5 мл стабилизированной крови с 0,5 мл взвеси суточной агаровой культуры золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus* 209P) – 10^8 КОЕ/мл или 0,5 по стандарту мутности МакФарланда, с последующей иммерсионной микроскопией мазков крови, окрашенных с применением набора Лейкодиф 200. Оценивали фагоцитарный индекс (ФИ) – процент активно участвующих в фагоцитозе лейкоцитов, а также фагоцитарное число (ФЧ) – среднее количество фагоцитированных микробов в пересчёте на один фагоцитирующий лейкоцит [13].

Лимфоциты крови получали центрифугированием стабилизированной крови в градиенте плотности фикол – урографина (1,077 г/мл) [14]. Жизнеспособность лимфоцитов оценивали по МТТ-тесту, характеризующему митохондриальную активность клеток и основанному на восстановлении соли тетразолия митохондриальными дегидрогеназами до нерастворимых кристаллов формазана с последующим колориметрическим учётом концентрации формазана и перерасчётом на 1 лимфоцит [15].

Результаты и обсуждение

Показатели фагоцитарной активности лейкоцитов крови тёлочек до и после иммунизации животных сплит-конъюгированной вакциной с полипептидом С, сплит-антигенами на физиологическом растворе одновременно с фоспренилом и без него, в динамике представлены в таблице 1.

Таблица 1 / Table 1

Результаты фагоцитоза до и после вакцинации / The results of phagocytosis before and after vaccination

Проба Sample	Вакцина с полипептидом С (гр. I) Vaccine with polypeptide С (gr. I)		Вакцина с фоспренилом (гр. II) Vaccine with fosprenil (gr. II)		Вакцина на физрастворе (гр. III) Vaccine in saline (gr. III)	
	14 сут после 14 days after		14 сут после 14 days after		14 суток после 14 days after	
	F	FB	F	FB	F	FB
1	14±1	16,0±2,0	20±2	19±2	20±2	24,0±2,0
2	18±2	40,0±4,0	22±2	21±2	22±2	36,0±3,0
3	18±2	16,0±2,0	22±2	21±2	22±2	32,0±3,0
4	20±2	28,0±3,0	20±2	20±2	18±2	30,0±3,0
5	16±1	16,0±2,0	24±2	20±2	20±2	28,0±3,0
6	24±2	32,0±3,0	22±2	26±2	22±2	36,0±3,0
<i>M±m</i>	18,3±2,7*	24,7±8,0	21,7±1,1	21,2±1,9	20,7±1,3	31,0±3,7
Проба Sample	30 сут после 30 days after	90 сут после 90 days after	30 сут после 30 days after	90 сут после 90 days after	30 сут после 30 days after	90 сут после 90 days after
	20,0±2,0	16,0±2,0	36,0±3,0	65,0±5,0	24,0±2,0	20,0±2,0
1	18,0±2,0	14,0±2,0	44,0±3,0	45,0±4,0	44,0±4,0	26,0±2,0
2	32,0±3,0	24,0±2,0	46,0±4,0	48,0±5,0	34,0±3,0	26,0±2,0
3	18,0±2,0	18,0±2,0	38,0±4,0	48,0±5,0	30,0±3,0	22,0±2,0
4	24,0±3,0	22,0±2,0	36,0±3,0	65,0±5,0	32,0±3,0	28,0±3,0
5	18,0±2,0	16,0±2,0	33,0±3,0	62,0±4,0	30,0±3,0	18,0±2,0
6	30,0±3,0	30,0±2,0	38,8±4,0*	58,3±7,3*	38,0±3,0	24,0±2,0
<i>M±m</i>	23,7±4,8	22,3±4,8	38,8±4,0*	58,3±7,3*	31,3±3,7	22,0±2,2

Примечание: F – количество фагоцитирующихся лейкоцитов (на 100); FB – количество фагоцитированных бактерий; * – достоверные различия опытных групп между собой (p < 0,05).

Note: F – number of phagocytosed leukocytes (per 100); FB – number of phagocytosed bacteria; * – significant differences between the experimental groups (p < 0.05).

Анализ данных таблицы 1 показал, что на момент вакцинации тёлочек вакциной против бруцеллёза животных, такие показатели активности фагоцитоза, как ФИ и ФЧ находились в среднем на одном уровне в экспериментальных группах. Однако в группе I показатель ФИ изначально был на 18,5% ниже, чем во II группе и на 13% ниже, чем в III группе, в то время как индекс ФЧ во всех группах составлял около 1. Через 14 сут после вакцинации, ФИ нейтрофилов и моноцитов во II группе был в 2,0 и 1,6 раз выше, чем в I и III группах. Что касается индекса ФЧ, то в I, II и III группах он составил соответственно 1,6; 2,0 и 1,4. Спустя 30 сут после иммунизации животных ФИ лейкоцитов у тёлочек I и III групп остался фактически на прежнем уровне, тогда как во второй группе он снизился на 31%, но, тем не менее, оставался в 1,6 и 1,2 раза выше, чем у животных первой и третьей групп. Снизился и индекс ФЧ: максимальное значение его было во второй группе – 1,5. В I и III группах он составил 1,3 и 1,4 соответственно. Через 90 сут после иммунизации животных ФИ лейкоцитов тёлочек второй группы уменьшился почти на 38%, но он тем не менее был в 1,3 раз больше, чем в группах I и III. Следует отметить, что ФИ во всех группах животных в этот период времени стремился к исходным значениям. Показатель ФЧ во всех экспериментальных группах уже составлял 1, как и на момент начала эксперимента.

Представленные данные свидетельствуют о более высокой активности фагоцитоза у животных второй группы, получивших иммуномодулятор фоспренил одновременно с бруцеллёзными сплит-антигенами. Известно, что фагоцитоз, являясь фактором клеточного иммунитета, также предшествует процессу презентации бактериальных антигенов макрофагами другим иммунокомпетентным клеткам, следствием чего являются трансформация лимфоцитов в плазматические клетки, продуцирующие антитела и обеспечивающие гуморальный иммунный ответ, а также продукция регуляторов иммунного ответа – цитокинов [6, 16]. Полученные нами данные могут являться свидетельством наиболее значительной активации клеточного и гуморального иммунитета у животных при сочетанном применении иммуномодулятора фоспренила и сплит-антигенов.

Результаты наших исследований коррелируют с мнением о том, что применение иммуномодуляторов вызывает усиление фагоцитарной активности гранулоцитов при сочетанном

введении их с противобруцеллёзными вакцинами, но показатели иммуногенности вакцин изменяются при использовании разных иммуномодуляторов [7]. В своих исследованиях мы использовали сплит-антигены – только те белки, антитела к которым играют протективную роль, что по мнению ряда отечественных и зарубежных авторов не оказывает излишней нагрузки на иммунную систему и способствует формированию высоко специфичного иммунного ответа [12, 17].

По нашим данным, максимальный подъём фагоцитарной активности приходился на 14 сут после иммунизации вакциной с применением фоспренила. Следовательно, мы можем предположить, что уже в этот период животные данной группы были максимально защищены от заражения бруцеллёзом на клеточном и гуморальном уровнях, что подтверждается мнением Ш.А. Кулжановой, показавшей в своих исследованиях выраженную противобруцеллёзную активность иммуномодуляторов [10].

Существует мнение, что концентрация формазана в 1-м лимфоците характеризует активность лимфоцитов, является показателем активности кислородзависимого киллинга цитотоксическим пулом позитивных клеток и способности клеток к пролиферации, что может свидетельствовать об участии их в иммунном ответе животных на введённую вакцину [10, 15].

Данные по изучению дыхательной активности лимфоцитов крови животных до и после иммунизации противобруцеллёзной сплит-конъюгированной вакциной с полипептидом С, сплит-антигенами на физиологическом растворе одновременно с фоспренилом и без него, в динамике представлены в таблице 2.

Как следует из данных таблицы 2, среднее значение концентрации формазана в одном лимфоците у животных перед иммунизацией сплит-антигенами на физиологическом растворе (III группа) было в 1,6 и 2,3 раза выше, чем у животных I и II групп. Однако, через 14 сут после вакцинации показатель активности митохондриальных ферментов лимфоцитов животных второй группы возрос более, чем в 4 раза и значительно превысил таковые в I и III группах, так как дыхательная активность лимфоцитов у животных этих групп увеличилась лишь в 1,3 и 1,2 раза соответственно. Несмотря на то, что дыхательная активность лимфоцитов тёлочек II группы на 30 сут от начала эксперимента снизилась на 24%, этот показатель, тем не менее, был в 1,8 раза выше,

Таблица 2 / Table 2

Концентрация формазапа в одном лимфоците, нг / Formazan's concentration in one lymphocyte, ng

Проба Sample	Вакцина с полипептидом С (гр. I) Vaccine with polypeptide C (gr. I)		Вакцина с фоспрениллом (гр. II) Vaccine with fosprenil (gr. II)		Вакцина и физраствор (гр. III) Vaccine and saline (gr. III)	
	до вакцинации before vaccination	14 сут после 14 days after	до вакцинации before vaccination	14 сут после 14 days after	до вакцинации before vaccination	14 сут после 14 days after
1	0,0153±0,0016	0,0126±0,0014	0,0015±0,0004	0,0070±0,0009	0,0058±0,0004	0,0061±0,0014
2	0,0119±0,0012	0,0273±0,0027	0,0100±0,0012	0,1306±0,0151	0,0153±0,0014	0,0234±0,0019
3	0,0152±0,0015	0,0271±0,0025	0,0090±0,0011	0,0018±0,0008	0,0300±0,0034	0,0448±0,0047
4	0,0094±0,0003	0,0138±0,0011	0,0100±0,0014	0,0021±0,0019	0,0250±0,0027	0,0244±0,0021
5	0,0059±0,0003	0,0037±0,0004	0,0100±0,0010	0,0327±0,0036	0,0208±0,0024	0,0282±0,0030
6	0,0164±0,0041	0,0131±0,0014	0,0088±0,0009	0,0311±0,0034	0,0187±0,0019	0,0061±0,0009
<i>M±m</i>	0,0124±0,0032*	0,0167±0,0072	0,0082±0,0026*	0,0342±0,0385*	0,0193±0,0065*	0,0222±0,0115*
Проба Sample	30 сут после 30 days after	90 сут после 90 days after	30 сут после 30 days after	90 сут после 90 days after	30 сут после 30 days after	90 сут после 90 days after
1	0,0123±0,0019	0,0140±0,0016	0,0293±0,0031	0,01846±0,0019	0,0056±0,0006	0,0057±0,0008
2	0,0270±0,0029	0,0090±0,0011	0,0740±0,0082	0,0011±0,0001	0,0203±0,0022	0,0120±0,0091
3	0,0286±0,0031	0,0170±0,0018	0,0021±0,0019	0,0010±0,0001	0,0370±0,0039	0,0120±0,0093
4	0,0042±0,0041	0,0079±0,0008	0,0020±0,0018	0,0085±0,0011	0,0207±0,0019	0,0220±0,0022
5	0,0042±0,0043	0,0075±0,0009	0,0278±0,0029	0,0190±0,0022	0,0236±0,0025	0,0180±0,0019
6	0,0126±0,0014	0,0146±0,0015	0,0291±0,0031	0,0185±0,0021	0,0056±0,0007	0,0057±0,0011
<i>M±m</i>	0,0148±0,0084	0,0117±0,0032	0,0274±0,0206*	0,0111±0,0068	0,0188±0,0093	0,0126±0,0051

Примечание: * – достоверные различия опытных групп между собой ($p < 0,05$).Note: * – significant differences between the experimental groups ($p < 0,05$).

чем I группе и в 1,5 раз выше, чем в III группе, хотя активность митохондриальных ферментов лимфоцитов снижалась в этих группах более плавно: на 12 и 18% соответственно. Спустя 90 сут после иммунизации животных, концентрация формазана в одном лимфоците у тёлочек всех экспериментальных групп понизилась и приближалась к исходным значениям до вакцинации. А в III группе она даже стала в 1,8 раз меньше исходных данных. При этом в группе, где был использован полипептид С, снижение дыхательной активности лимфоцитов происходило постепенно, всего на 26%, в то время как в двух других группах она снизилась резко – почти на 50%.

Полученные нами данные свидетельствуют о выраженной динамике дыхательной активности лимфоцитов и об интенсивности их участия в формировании клеточного и гуморального иммунного ответа на различных этапах эксперимента. Пик дыхательной активности лимфоцитов приходился на 14 сут после иммунизации, что коррелирует с полученными нами данными по наибольшей активности фагоцитоза в этот период (табл. 1). При этом отмечался скачкообразный подъём активности митохондриальных ферментов лимфоцитов и относительно резкий спад, в случае использования иммуномодулятора фоспренила. При применении иммунопротектора полипептида С регистрировалось наиболее плавное изменение этого показателя. Меньше всего данный показатель изменялся при вакцинации только сплит-антигенами.

Заключение

Наше исследование по применению сплит-конъюгированной противобруцеллёзной вакцины показало, что протективные антитела обнаруживаются спустя 7 месяцев после иммунизации, но их титр постепенно снижается к 7-му месяцу почти на 30% [18]. Создать более высокий титр защитных антител возможно при использовании модуляторов иммунитета [6]. Проведённые нами ранее исследования по применению иммуномодулятора полиоксидония в сочетании с бруцеллёзными сплит-антигенами показали, что он стимулирует фагоцитарную активность, однако, при этом нами не было отмечено увеличение дыхательной функции клеток [9]. Представленные в настоящей статье результаты исследования свидетельствуют о том, что фоспренил не только повышает показатели фагоцитарной активности лейкоцитов, но и способствует росту по-

казателя жизнеспособности лимфоцитов крови иммунизированных животных.

Таким образом, сплит-конъюгированная вакцина против бруцеллёза животных является перспективным препаратом для профилактики данного зооноза. Применение вакцины сочетано с иммуномодулятором фоспренилом способствует активации фагоцитоза и повышению активности лимфоцитов крови животных. И, что особенно важно, испытываемая нами вакцина, являясь инактивированной (убитой), имеет огромное преимущество перед применяемыми в настоящее время живыми вакцинами, возбудитель которых, в ряде случаев обладающий остаточной вирулентностью, способен выживать в ОС, участвуя тем самым в формировании природных очагов инфекции и распространении бруцеллёза животных и человека.

Литература

1. Бакулов И.А., Гаврилов В.А., Селивёрстов В.В. Сибирская язва (антракс): новые страницы в изучении «старой болезни». Владимир: Посад, 2000. 281 с.
2. Галиулин А.К., Госманов Р.Г. Сибирская язва сельскохозяйственных животных. Казань: Отечество, 2013. 306 с.
3. Девришов Д.А., Янышев А.А. Эпизоотическая обстановка по бруцеллёзу животных в Российской Федерации и Республике Дагестан // Ветеринарная медицина. 2007. № 1. С. 16–17.
4. Девришов Д.А., Янышев А.А. Результаты эпизоотологического анализа по бруцеллёзу животных // Ветеринария. 2006. № 6. С. 30.
5. Ющук Н.Д., Ахмедова М.Д., Магомедова С.А. Т- и В-клеточный иммунитет у больных бруцеллёзом // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. 2008. № 3. С. 90–92.
6. Парахонский А.П. Эффекты ключевых регуляторных цитокинов при воспалении // В мире научных открытий: материалы X Международной научно-практической конференции. Москва, 2013. С. 36–40.
7. Чанборисов С.С. Иммуноморфологическая оценка противобруцеллёзных вакцин при сочетанном применении с иммуномодуляторами: автореферат дис. ... канд. вет. наук. Казань, 2001. 22 с.
8. Санин А.В., Кожевникова Т.Н., Агафонова А.Д. Гамавит повышает эффективность терапии бабезиоза собак: контролируемое исследование // Ветеринарный журнал Беларуси. 2017. № 6. С. 39–42.
9. Веселовский С.Ю., Агольцов В.А., Попова О.М., Девришов Д.А. Экспериментальное применение сплит-конъюгированной вакцины против бруцеллёза животных с использованием иммуномодулятора полиоксидония // Научная жизнь. 2018. № 2. С. 89–100.

10. Кулжанова Ш.А. Состояние системы фагоцитоза у больных хроническим бруцеллёзом в ходе лечения полиоксидонием // Медицинский журнал Западного Казахстана. 2009. № 2. С. 24–26.

11. Мурзалиев И.Д. Терапевтическая эффективность препарата «Фоспренил» // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2017. № 4 (150). С. 139–141.

12. Баринский И.Ф., Махмудов Ф.Р., Мордвинцева Э.Ю., Сергеев О.В. Специфические инактивированные вакцины и иммуномодуляторы как средство экстренной профилактики острых вирусных инфекций и рецидивов хронических вирусных заболеваний // Terra medica. 2014. № 4. С. 22–26.

13. Кутузова А.А. Изменения лейкоцитарной реакции крови, фагоцитоза и его расчётных коэффициентов в динамике хронического болевого синдрома // Медицинский вестник Башкортостана. 2009. № 2 (4). С. 142–145.

14. Artemev D.A., Krasnikova E.S., Krasnikov A.V., Radionov R.V., Stolbovskaya O.V., Kostishko B.B. The study of the structural features of the lymphocytes from cattle with and without retroviral infection using atomic force microscopy // Progress in Biomedical Optics and Imaging – Proceedings of SPIE 5, Optical Technologies in Biophysics and Medicine. 2018. P. 107160G.

15. Аникина Л.В., Пухов С.А., Дубровская Е.С., Афанасьева С.В., Ключков С.Г. Сравнительное определение жизнеспособности клеток с помощью МТТ и резазурина // Фундаментальные исследования. 2014. № 12. С. 1423–1427.

16. Truong Q.L., Cho Y., Park S., Kim K., Hahn T.W. *Brucella abortus* ΔcydCΔcydD and ΔcydCΔpurD double-mutants are highly attenuated and confer long-term protective immunity against virulent *Brucella abortus* // Vaccine. 2016. V. 34. No. 2. P. 237–244.

17. Baxter D. Active and passive immunity, vaccine types, excipients and licensing // Occup Med. 2007. V. 57. No. 8. P. 552–556.

18. Веселовский С.Ю., Агольцов В.А., Попова О.М., Смирнова К.Ю. Экспериментальное применение сплит-конъюгированной вакцины против бруцеллёза животных на крупном рогатом скоте // Аграрный научный журнал. 2018. № 6. С. 3–6.

References

1. Bakulov I.A., Gavrilov V.A., Seliverstov V.V. Anthrax: new pages in the study of the “old disease”. Vladimir: Posad, 2000. 281 p. (in Russian).

2. Galiulin A.K., Gosmanov R.G. Anthrax of farm animals. Kazan: Otechestvo, 2013. 306 p. (in Russian).

3. Devrshov D.A., Yanyshv A.A. Epizootic situation of animals' brucellosis in the Russian Federation and the Dagestan Republic // Veterinarnaya meditsina. 2007. No. 1. P. 16–17 (in Russian).

4. Devrshov D.A., Yanyshv A.A. The results of the epidemiological analysis on animals' brucellosis // Veterinarnaya meditsina. 2006. No. 6. P. 30 (in Russian).

5. Yushchuk N.D., Akhmedova M.D., Magomedova S.A. T- and B-cell immunity in patients with brucellosis // Bulletin

of the St. Petersburg State Medical Academy named after I.I. Mechnikov. 2008. No. 3. P. 90–92 (in Russian).

6. Parakhonsky A.P. Effects of key regulatory cytokines in inflammation // In the world of scientific discoveries: proceedings of the X International scientific-practical conference. Moskva, 2013. P. 36–40 (in Russian).

7. Chanborisov S.S. Immunomorphological evaluation of anti-brucellosis vaccines using combined with immunomodulators: abstract dis. ... kand. vet. sciences. Kazan, 2001. 22 p. (in Russian).

8. Sanin A.V., Kozhevnikova T.N., Agafonova A.D., Annikov V.V., Annikova L.V. Gamavit increases the effectiveness of babesiosis treatment at dogs: a controlled study // Belarus veterinary journal. 2017. No. 6. P. 39–42 (in Russian).

9. Veselovskiy S.Y., Agoltsov V.A., Popova O.M., Devrshov D.A., Kozlov S.V. Experimental application of split-conjugated vaccine against brucellosis of animals using the polyoxidonium immunomodulatory // Nauchnaya zhizn. 2018. No. 2. P. 89–100 (in Russian).

10. Kulzhanova Sh.A. Disorder of hemostasis system in brucellosis // Medical journal of West Kazakhstan. 2009. No. 2. P. 24–26 (in Russian).

11. Murzaliyev I.D. Therapeutic efficacy of Phosprenyl medical preparation // Bulletin of Altai State Agricultural University. 2017. No. 4 (150). P. 139–141 (in Russian).

12. Barinsky I.F., Makhmudov F.R., Mordvintseva E.Y., Sergeev O.V. Specific inactivated vaccines and immunomodulators as means of emergency prevention of acute viral infections and relapse prevention of chronic viral diseases // Terra medica. 2014. No. 4. P. 22–26 (in Russian).

13. Kutuzova A.A. Changes in blood leukocyte reactions, phagocytosis and its calculated coefficients in the dynamics of chronic pain syndrome // Meditsinskiy vestnik Bashkortostana. 2009. No. 2 (4). P. 142–145 (in Russian).

14. Artemev D.A., Krasnikova E.S., Krasnikov A.V., Radionov R.V., Stolbovskaya O.V., Kostishko B.B. The study of the structural features of the lymphocytes from cattle with and without retroviral infection using atomic force microscopy // Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE 5, Optical Technologies in Biophysics and Medicine. 2018. P. 107160G. doi: 10.1117/12.2317558

15. Anikina L.V., Pukhov S.A., Dubrovskaya E.S., Afanaseva S.V., Klochkov S.G. Comparative definition of cell viability by MTT and resazurin // Fundamentalnye issledovaniya. 2014. No. 12. P. 1423–1427 (in Russian).

16. Truong Q.L., Cho Y., Park S., Kim K., Hahn T.W. *Brucella abortus* ΔcydCΔcydD and ΔcydCΔpurD double-mutants are highly attenuated and confer long-term protective immunity against virulent *Brucella abortus* // Vaccine. 2016. V. 34. No. 2. P. 237–244. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.11.030

17. Baxter D. Active and passive immunity, vaccine types, excipients and licensing // Occup Med. 2007. V. 57. No. 8. P. 552–556. doi: 10.1093/occmed/kqm110

18. Veselovsky S.Yu., Agoltsov V.A., Popova O.M., Smirnova K.Yu. Experimental application of a split-conjugated vaccine against animal brucellosis in cattle // Agrarnyy nauchnyy zhurnal. 2018. No. 6. P. 3–6 (in Russian).