

Список літератури

1. Вирусные болезни животных [Текст] / В.Н. Сюрин [и др.]. – М.: ВНИТИБП, 1998. – 721 с. 2. Инфекционная патология животных [Текст]. В 2 т. / А.Я. Самуйленко [и др.]. – М.: ИКЦ «Академкнига», 2006. – Т. 1. – 1911 с. 3. Криоконсервирование клеточных суспензий [Текст] / А.А. Цуцаева [и др.]. – К.: Наукова думка, 1983. – 240 с. 4. Лукина, В.А. Современное состояние и перспективы вакцинопрофилактики болезни Марека [Текст] / В.А. Лукина, Б.В. Соловьёв, Н.Н. Быкова // Научные основы производства вет. биол. препаратов: тез. докл. – Щёлково, 2000. – С. 6–8. 5. Лярс-ки, З. Диагностика вирусных болезней животных [Текст] / З. Лярска; пер. с пол. Т.Г. Орловой, Я.С. Ляндесберга; под ред. В.Н. Сюрин. – М.: Колос, 1980. – 399 с. 6. Стегний, М.Ю. Особенности криоконсервирования клеток, инфицированных вирусами [Текст] / М.Ю. Стегний, И.Л. Дикий, Б.Т. Стегний // Экспериментальна і клінічна медицина. – 1999. – № 2. – С. 111–113. 7. Сергеев, В.А. Культуры клеток в ветеринарии и биотехнологии [Текст] / В.А. Сергеев, Ю.А. Собко. – К.: Урожай, 1993. – 151 с. 8. Стегний, Б.Т. Сравнительное изучение криозащитного эффекта различных криопротекторов для культур и тканей [Текст] / Б.Т. Стегний // Актуальные проблемы ветеринарной вирусологии: тез. докл. науч. конф. – Владимир, 1986. – С. 50–52. 9. Декларационный патент на полезную модель № 4912 Украина, МПК С12N 7/00, С12N 1/04, С12R 1/93. Способ консервирования вируса болезни Марека [Текст] / М.Ю. Стегний, Б.Т. Стегний, О.В. Заремба; IEKBM. – № 20040503887; заявл. 24.05.2005; опубл. 15.02.2005, Бюл. №2. – 4 с. 10. Фрешни, Р. Культура животных клеток: методы [Текст] / Р. Фрешни. – М.: Мир, 1989. – 332 с.

**BIOLOGICAL ASPECTS OF CRYOPRESERVATION AND STORAGE OF SEED STRAINS AND ATTENUATED ISOLATES OF MAREK'S DISEASE VIRUS**

**Stegniy M. Yu.**

*National Scientific Centre "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkov*

*The optimal cryopreservation and storage technology of seed strains and attenuated isolates of Marek's disease virus were selected. Ex strains and isolates of the pathogen, which can be used as components in future polyvalent vaccine against MD kept ultrastructure and titers of infectious activity at baseline levels throughout the whole period of storage under conditions of liquid nitrogen.*

УДК 636.09:616.98:615.371:[57.063.8:579.852.1]

**ПІДҐРУНТЯ ДЛЯ ЗАПРОВАДЖЕННЯ РЕФЕРЕНС-ПРЕПАРАТУ ВАКЦИНИ ПРОТИ СИБІРКИ ТВАРИН**

**Ушкалов В.О., Мачуський О.В., Бабкін М.В., Виговська Л.М., Ковтун В.А.**

*Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, м. Київ*

**Кошельник В.Г.**

*Херсонське державне підприємство-біологічна фабрика, м. Херсон*

**Кричний О.М.**

*Головне управління ветеринарної медицини в Херсонській області, м. Херсон*

Ідея створення препаратів, застосування яких створювало б не сприйнятливості організму до інфекційних хвороб, зародилася у людства дуже давно, але її втілення стало можливим лише у XVIII ст. після створення вакцини проти віспи [1].

Toussaint встановив, що вівці не хворіють сибіркою, якщо їм попередньо підшкірно ввести дефібриновану кров, яка містить бацили та була прогріта протягом 10 хвилин за температури 55 °С [2]. Луї Пастер надав перевагу іншому шляху отримання протисибіркових вакцин, який він вже застосовував для ослаблення збудника холери курей, але стало зрозумілим, що мікроби антраксу не слабнуть від дії атмосферного повітря, а перетворюються в спори [3]. У 1881 році Пастер повідомив, про розробку іншого методу отримання вакцини: вірулентну культуру, виділену з трупу тварини, що загинула від сибірки, засівають до курячого бульйону та культивують в термостаті за температури 42–43 °С для аттенуації [4]. Використання препаратів, виготовлених таким шляхом передбачало почергове підшкірне введення I-ї та II-ї вакцини. Далі є так зване комбінаційне, або симультанне, щеплення, коли вводять разом II-у вакцину та гіперімунну сироватку. А. Безредьком зі співавторами було розроблено метод внутрішньошкірного введення вакцин, при цьому автори вказували на більш високу ефективність даного методу [1]. Проблемою профілактики антраксу науковці займаються вже понад століття, але не дивлячись на це, сьогодення пред'являє нам нові виклики та проблеми.

Особлива увага до збудника сибірки обумовлена його здатністю викликати тяжкі захворювання та загибель тварин і людей, тривалий час зберігатися в зовнішньому середовищі без втрати патогенних властивостей, а також можливістю використання *Bacillus anthracis* в якості біологічної зброї або засобу біотероризму [4, 5, 6].

Не зважаючи на те, що в Україні зареєстровано дві вакцини проти сибірки тварин, ефективність яких доведена застосуванням упродовж майже 20 років, глобальні виклики стосовно біобезпеки, біозахисту та продовольчої безпеки обґрунтовують проведення наукових досліджень стосовно підвищення рівня ефективності засобів імунізації.

Для проведення профілактичної імунізації найбільш широко у світі застосовуються живі вакцини із штамів мікроорганізмів, що втратили здатність до капсулоутворення. Так, у КНР використовується вакцина з авірулентного штаму Langzhou A16R. У країнах СНД користувалися та користуються такими безкапсульними штамми сибірки: *Bacillus anthracis* СТИ-1, *Bacillus anthracis* 55-ВНИИВ-ВиМ, *Bacillus anthracis* СБ та *Bacillus anthracis* К-79Z. Проте, за даними ОІЕ, у більшості країн світу застосовуються препарати із штаму *B. anthracis* Sterne 34F2, що обумовлено сукупністю чинників, зокрема – більш вираженої імуногенності та рівня безпечності для тварин (Plotkin S.A., 2011). В Україні штамми, що рекомендовані ОІЕ і FAO (Продовольчою та сільськогосподарською організацією Об'єднаних Націй) для виготовлення вакцин проти сибірки – *Bacillus anthracis* Sterne 34F2 та *Bacillus anthracis* 55-ВНИИВВИМ – не використовуються. Тобто постає питання нормативного регулювання та методологічної основи для контролю якості протисибіркових вакцин згідно міжнародних вимог. Порівняльний аналіз національних і міжнародних нормативно-правових документів (НД) у галузі розробки, виробництва та контролю якості препаратів для профілактики сибірки з метою оптимізації контролю їх якості

відповідно до міжнародних вимог [7] свідчить про певний рівень розбіжностей стосовно методик визначення імуногенності, зокрема вимог до стандартизації штаму для контролю імуногенності, його дозуванні. Крім того, нині діючі нормативні документи [13] рекомендують використання референс-препарату (референт-вакцини). А враховуючи позитивний досвід використання референс-препарату під час проведення контролю якості вакцин проти сказу, вбачається за необхідне впровадження вимог діючих НД щодо порівняльного визначення ІмД<sub>50</sub> виготовлених серій вакцинного та референс-препаратів. На цей час, за даними ДВФСУ, в Україні не зареєстровано жодного референс-препарату для контролю якості вакцин проти сибірки тварин.

За результатами попередніх досліджень нами вдосконалено процедуру контролю якості протисибіркових спорових вакцин, обґрунтовано дозування та точки введення штаму *Bacillus anthracis* M-71 для контролю імуногенності та безпечності, та визначена його доза тощо [7, 8, 9, 10].

**Метою** роботи було порівняльне вивчення імуногенних властивостей різних вітчизняних препаратів для профілактики сибірки тварин.

**Матеріали та методи досліджень.** Дослідження проводили відповідно до «Методики порівняльних комісійних досліджень вакцин проти сибірки тварин» (затвердженої наказом директора Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів № 21 від 08 травня 2012 року) на базі Херсонського державного підприємства-біологічна фабрика в період з 15 травня по 15 червня 2012 року.

Для порівняльного дослідження було використано препарати, відібрані з архівів біопідприємств у межах термінів їх придатності, відповідно до таблиці 1.

**Таблиця 1** – Характеристика засобів профілактики сибірки тварин (згідно АНД на відповідні препарати), що були використані в експериментах

№ зразку	Назва	Кількість спор в 1 см <sup>3</sup>
1	Вакцина проти сибірки тварин із штаму <i>Sterne 34F2</i>	12±4 млн.
2	Вакцина проти сибірки тварин «Антравак»	16±4 млн.
3	Вакцина жива спорова проти сибірки тварин із штаму «СБ» (рідка)	20–25 млн.
4	Вакцина жива проти сибірки тварин із штаму «К-79Z»	20–25 млн.

Дослідження проводили із урахуванням розроблених нами вимог [11], за наступними показниками якості протисибіркових препаратів:

– *Кількість життєздатних спор* (визначали відповідно до «Керівництва по виготовленню вакцини проти сибірки, ФАО») [12].

– *Залишкова вірулентність* (визначали відповідно до «Керівництва по виготовленню вакцини проти сибірки, ФАО» [12], дослідження проводили разом із визначенням імуногенності, при цьому на кожен препарат використовували по 4 морські свинки: двом морським свинкам вводили по 0,2 см<sup>3</sup> вакцини внутрішньочеревинно, іншим двом – по 1,0 см<sup>3</sup> вакцини підшкірно).

– *Імуногенність* (визначали відповідно до «Государственного стандарта Союза ССР «Вакцина СТИ живая против сибирской язвы животных», ГОСТ 15991-86, на морських свинках масою 350–400 г). Метод базується на визначенні 50 %-ї імунізуючої дози (ІмД<sub>50</sub>) дослідних препаратів [13]. З цією метою готували розведення вакцин на стерильному фізіологічному розчині у співвідношеннях 1:2, 1:10, 1:50 та 1:250. Виготовлені розведення вакцин (в перерахунку на кількість спор відповідно до АНД) вводили підшкірно морським свинкам в області черева по 0,5 см<sup>3</sup>. На кожне розведення використовували по 10 тварин. Контрольним тваринам вводили стерильний фізіологічний розчин шляхом і в дозах, що й тваринам дослідних груп. На 21 добу після щеплення дослідним тваринам підшкірно вводили 100 мінімальних летальних доз (МЛД) контрольного штаму *Vac. anthracis* M-71, а контрольним – 10 МЛД. За тваринами вели спостереження впродовж 10 діб. Кількість дослідних тварин, що вижили та загинули обліковували. ІмД<sub>50</sub> досліджуваних препаратів розраховували за формулою:

$$\lg \text{ІмД}_{50} = K - 0,699 \left( \sum_{i=1}^n Li - 0,5 \right)$$

де: K – логарифм максимальної імунізуючої дози (залежить від препарату);

0,699 – логарифм кроку розведення препаратів, що дорівнює 5;

Li – відношення числа тварин, що вижили після зараження, до загальної кількості морських свинок, котрим було введено дози дослідного препарату;

i – індекс, що відповідає номеру дози;

0,5 – постійний коефіцієнт.

**Результати досліджень.** Результати визначення залишкової вірулентності дали підстави вважати, що усі дослідні препарати були авірулентними. Тобто, по закінченню терміну спостереження щеплені тварини з усіх груп залишилися живими.

Результати визначення кількості життєздатних спор наведено в таблиці 2. Встановлено, що вакцина жива спорова проти сибірки тварин із штаму «СБ» рідка містила 11,2 млн. спор/см<sup>3</sup>, вакцина жива проти сибірки тварин із штаму «К-79Z» уміщувала 20,6 млн. спор/см<sup>3</sup>; експериментальна вакцина проти сибірки тварин «Антравак» містила 27,87 млн. спор/см<sup>3</sup>, а вакцина проти сибірки тварин із штаму *Sterne 34F2* містила 13,32 млн. спор/см<sup>3</sup>.

**Таблиця 2** – Результати визначення кількості життєздатних спор дослідних зразків препаратів, млн. у 1 см<sup>3</sup>

Препарат	Кількість КУО в 1 см <sup>3</sup> препарату, млн.	Кількість КУО в 1 см <sup>3</sup> препарату, млн., згідно НД
Вакцина проти сибірки тварин із штаму <i>Sterne 34F2</i>	13,32	12±4
Експериментальна вакцина проти сибірки тварин «Антравак»	27,87	16±4
Вакцина жива спорова проти сибірки тварин із штаму «СБ» рідка, серія 16	11,2	22,5±2,5
Вакцина жива проти сибірки тварин із штаму «К-79Z», серія 4	20,6	22,5±2,5

З метою визначення імуногенності, відповідно до діючого ГОСТ 15991-86, було виготовлено розведення вакцин 1:2, 1:10, 1:50 та 1:250 у стерильному ізотонічному розчині хлориду натрію, отриманими зразками щеплено тварин.

Через 21 добу після щеплення, щепленими тваринам вводили 100 МЛД контрольного штаму *Vac. anthracis* M-71, а контрольним – 10 МЛД вище зазначеного штаму (1 МЛД *Vac. anthracis* M-71 складає 17 тис. спор).

Період спостереження, відповідно до ГОСТ 15991-86, за зараженими тваринами дорівнював 10 діб, при цьому враховували всі випадки загибелі експериментальних тварин. Необхідно зазначити, що рівень загибелі тварин в групі «контролю» дорівнював 100 %.

Облік результатів спостереження за дослідними тваринами відображено в таблиці 3.

Таблиця 3 – Тварини, що вижили після контрольного зараження

№ п/п	Препарат	Розведення							
		1:2		1:10		1:50		1:250	
		Щеплено	Вижило	Щеплено	Вижило	Щеплено	Вижило	Щеплено	Вижило
1	Вакцина проти сибірки тварин із штаму Sterne 34F2, ДНКІБШМ	7	7	7	6	7	1	7	0
2	Експериментальна Вакцина проти сибірки тварин «Антравак»	7	7	7	6	7	1	7	0
3	Вакцина жива проти сибірки тварин із штаму «К-79Z», серія 4	7	6	7	5	7	1	7	0
4	Вакцина жива спорова проти сибірки тварин із штаму «СБ» рідка, серія 16	7	5	7	2	7	0	7	0

У результаті розрахунків було встановлено показник  $ImD_{50}$  для усіх досліджених вакцин (рис. 1).

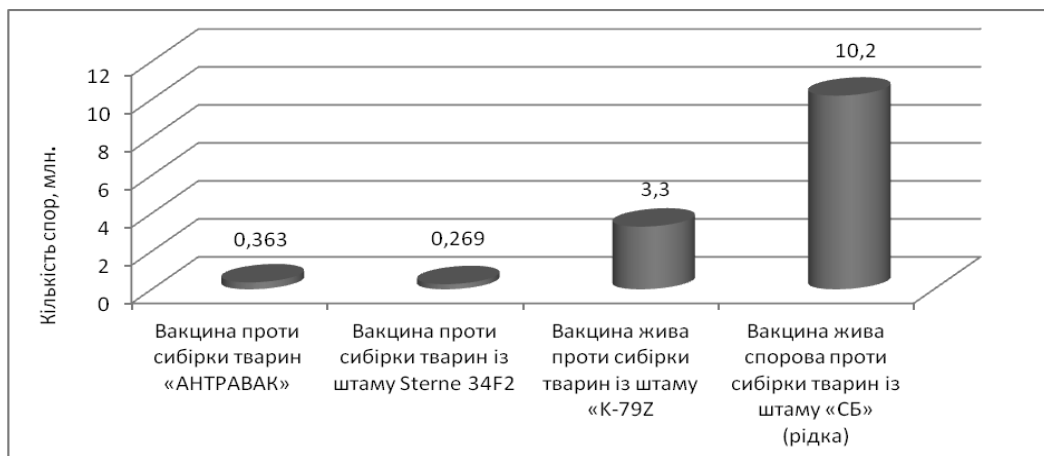


Рис. 1.  $ImD_{50}$  дослідних препаратів

Цей показник для досліджених вакцин склав:

1. Вакцина проти сибірки тварин із штаму Sterne 34F2, ДНКІБШМ – 269 тис. спор.
2. Вакцина проти сибірки тварин «Антравак» – 363 тис. спор.
3. Вакцина жива проти сибірки тварин із штаму «К-79Z» – 3,3 млн. спор.
4. Вакцина жива спорова проти сибірки тварин із штаму «СБ» рідка – 10,2 млн. спор.

**Висновки.** За результатами проведених досліджень встановлено:

1. Усі дослідні зразки препаратів відповідали вимогам нормативної документації та були авірулентними.
2.  $ImD_{50}$  «Вакцини проти сибірки тварин із штаму Sterne 34F2» є найнижчими серед дослідних препаратів, що дозволяє зменшувати кількість антигенного компоненту (життєздатних спор) у даній вакцині до  $12 \pm 4$  млн./см<sup>3</sup>. Тим самим зменшується навантаження на імунну систему організму тварин, що полегшує формування стійкого та напруженого імунітету проти сибірки [14, 15].

**Перспективи подальших досліджень.** Перспективним вбачається запровадження в Україні референс-вакцини проти сибірки тварин, розробка АНД та її державна реєстрація.

#### Список літератури

1. Сибирская язва [Текст] / ред. С.Г. Колесов. – М. : Колос, 1976. – 228 с.
2. Сибирская язва [Текст] / Н.Г. Ипатенко [и др.] ; ред. Н.Г. Ипатенко. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Колос, 1996. – 336 с.
3. Ипатенко, Н.Г. Сибирская язва свиней [Текст] / Н.Г. Ипатенко, В.Н. Гуцин, В.А. Седов. – М. : Колос, 1992. – 31 с.
4. Бакулов, И.А. Сибирская язва (антракс). Новые страницы в изучении «старой» болезни [Текст] / И.А. Бакулов, В.А. Гаврилов, В.В. Селивестров. – Владимир : Посад, 2001. – 278 с.
5. Інструкція про заходи з профілактики та боротьби з сибірською тварин : затв. Наказом Держ. департаменту вет. медицини Мінагропрому України 25 січня 2000 р. № 4 [Електронний ресурс]. – Режим доступу : <http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=z0135-00>. – Заголовок з екрану.
6. Черкасский, Б.Л. Эпидемиология и профилактика сибирской язвы [Текст] / Б.Л. Черкасский. – М. : ИНТЕРСЭН, 2002. – 384 с.
7. Імуногенність зразків вакцини проти сибірки із штаму *Bacillus anthracis* Sterne 34F2 [Текст] / В.О. Ушкалов [та ін.] // 15-й з'їзд Українського наук.-метод. т-ва мікробіологів, епідеміологів та паразитологів ім. Д.К. Заболотного : Проблеми та еволюція епідемічного процесу і паразитарних систем провідних інфекцій сучасності : тези доп. – Х., 2011. – С. 217–218.
8. Вивчення імунногенної активності лабораторних зразків вакцини проти сибірки тварин із штаму *Bacillus anthracis* Sterne 34F2 [Текст] / В.О. Ушкалов [та ін.] // Вет. медицина : міжвід. темат. наук. зб. – Х., 2011. – Вип. 95. – С. 310–312.
9. Мачуський, О.В. Розробка засобу специфічної профілактики сибірки із штаму *Bacillus anthracis* Sterne 34F2 [Текст] / О.В. Мачуський // Наук.-техн. бюл. Ін-ту біології тварин і держ. н.-д. контрольного Ін-ту ветпрепаратів та кормових добавок. – Львів, 2011. – Вип. 12, № 3, 4. – С. 447–451.
10. Результати комісійних досліджень вакцин проти сибірки тварин із штаму *Bacillus anthracis* Sterne 34F2 [Текст] / В.О. Ушкалов [та ін.] // Наук. вісн. вет. медицини БДАУ : зб. наук. пр. – 2011. – Вип. 7 (83). – С. 102–108.
11. Мачуський, О.В. Удосконалення вакцин проти сибірки тварин та методів контролю їх якості [Текст] : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.03 / Держ. наук.-контр. ін-т біотехнології і штамів мікроорганізмів. – К., 2013. – 21 с.
12. Manual for the production of anthrax and blackleg vaccines / FAO animal production and health paper. – Rome : Food and Agriculture Organization of the United Nations. – 1991. – Vol. 87. – 123 p.
13. Вакцина СТИ живая против сибирской язвы животных. Технические условия [Текст] : ГОСТ 15991-86 / Г.И. Романов, А.А. Маничев, А.В. Лукьянченко. – Введ. 7.08.1986 взамен ГОСТ 15991-77. – М. : Изд-во стандартов, 1986. – 23 с. – (Гос. стандарт СССР).
14. Патент на корисну модель 60603, Україна, U A61K 39/00 C12N 1/20. Спосіб виготовлення засобу профілактики сибірки тварин із штаму *Bacillus anthracis* Sterne 34F2 [Текст] / А.М. Головка [та ін.]. — заявл. 23.11.2010 ; опубл. 25.06.2011, Бюл. № 12. – 4 с.
15. Патент на корисну модель № 60602 U A61K 39/00. Спосіб виготовлення засобу профілактики сибірки тварин із штаму *Bacillus anthracis* Sterne 34F2 [Текст] / А.М. Головка [та ін.]. – № u201013939 ; заявл. 23.11.2010 ; опубл. 25.06.2011, Бюл. № 12. – 2 с.

## BASIS FOR IMPLEMENTATION OF REFERENCE-DRUG FOR ANTHRAX SPORE VACCINE

Ushkalov V.A., Machusky O.V., Babkin M.V., Vygovska L.M., Kovtun V.A.

State Scientific Control Institute of Biotechnology and strains, Kyiv

Koshelnyk V.G.

Kherson State Undertaking Biological Factory, Kherson

Krinichnyy O.M.

Department of Veterinary Medicine in Kherson, Kherson

In this study, were shown need of implementation of reference-drug of anthrax spore vaccine and the immunogenic properties of the "Anthrax vaccine strain of animals from Sterne 34F2" compared with other vaccines. Determine the stability of drugs, residual virulence and immunogenicity  $ImD_{50}$  designed to study drug.

Found that  $ImD_{50}$  "Vaccine against anthrax animals from strain Sterne 34F2" has the lowest among the tested drugs, which will reduce the amount of antigen component (viable spores) in this vaccine to  $12 \pm 4$  spores per ml. This reduces the load on the immune system of animals, which facilitates the formation of stable and intense antianthrax immunity.

УДК 619:616.98:579.873.21:636.2

ПОЛУЧЕНИЕ АНТИГЕНОВ МИКОБАКТЕРИЙ *M. BOVIS* VCG-1, *M. BOVIS*-8 И *M. BOVIS VALLEE* ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ПОСТВАКЦИНАЛЬНЫХ И ПОСТИНФЕКЦИОННЫХ АНТИТЕЛ

Хисматуллина Н.А., Хаертынов К.С., Шуралев Э.А., Гулюкин А.М., Ахмадеев Р.М.

ФГБУ Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности,  
г. Казань, Российская Федерация

Найманов А.Х.

ГНУ Всероссийский НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.П. Коваленко, г. Москва, Российская Федерация

Туберкулез распространен во многих странах мира и продолжает оставаться важной проблемой ветеринарии и медицины [4]. Микобактерии бычьего вида, *Mycobacterium bovis*, вызывают заболевание у крупного рогатого скота, барсуков, коз, овец, оленей, верблюдов, кошек, собак, лисиц, свиней и многих других животных, а также у человека. Своевременная диагностика и изолирование больных животных являются главными элементами борьбы с этим заболеванием. Внутрикожная туберкулиновая проба является основным методом в диагностике и контроле туберкулеза крупного рогатого скота. Однако она обладает недостаточной чувствительностью и специфичностью [3]. Перспективным в этом направлении являются методы иммуноферментного и иммуноблот-анализов, в том числе и мультиплексные их варианты [1, 5, 6]. Вместе с тем, актуальной проблемой остается дифференциация инфицированного от вакцинированного поголовья крупного рогатого скота.

Целью работы явилось получение антигенов микобактерий *M. bovis* VCG -1, *M. bovis*-8, *M. Bovis* Vallee-88 и изучение возможности их использования в иммуноферментном анализе для дифференциации поствакцинальных и постинфекционных антител к возбудителю туберкулеза крупного рогатого скота.

**Материалы и методы исследований.** Исследования проводили с микобактериями: *M. bovis*-8, *M. avium*, *M. intracellulare*, полученных из коллекции лаборатории микобактериозов ГНУ ВИЭВ им. Я.П. Коваленко, *M. tuberculosis* – из ГИСК им. Л.А. Тарасевича (г. Москва), производственным *M. bovis* Vallee-88 – из лаборатории «Музей штаммов» ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», а также вакциной туберкулезной из штамма VCG-1 – из ФГУП НПО «Микроген» МЗ РФ. В работе использовали сыворотки крови кроликов, иммунизированных антигенами вышеуказанных микобактерий.

Фракционирование белков, содержащихся в фильтрате культурального супернатанта, проводили в ступенчатом градиенте плотности сахарозы на ультрацентрифуге «Beckman», ротор Т1.

Уровень антител к исследуемым антигенам определяли стандартным методом непрямого иммуноферментного анализа (ИФА). В качестве антивидового конъюгата использовали антитела диагностические против IgG кролика или быка, НИИЭИМ им. Н.Ф. Гамалеи. Учет реакции проводили спектрофотометрически при 490 нм. Диск-электрофорез выполняли в платинчатом 12,5 % полиакриламидном геле (ПААГ) по U.K. Laemmli [8]. Для окрашивания белков, фракционированных в ПААГ, использовали 0,04 % кумасси ярко синий G-250 в 3,5 % растворе хлорной кислоты. В случае недостаточной плотности окрашенных зон, проводили дополнительное окрашивание с помощью  $AgNO_3$ . Определение молекулярных масс антигенов выполняли электрофоретическим методом по ранее описанной методике [2], используя набор белков «SDS-PAGE Standards Broad Range» (Bio-Rad). Электроперенос белков, фракционированных в ПААГ, на нитроцеллюлозную мембрану проводили на аппарате «TRANS-BLOON SD» (Bio-Rad).

**Результаты исследований.** По данным некоторых исследователей [10] наиболее значимыми в серологических реакциях являются белки микобактерий с молекулярной массой (м.м.) 88 кДа, 45–47 кДа, 38 кДа, 29–31 кДа, 16 кДа, 14 кДа и 6,5 кДа. В связи с этим было изучено наличие содержания указанных белков в клетках различных видов микобактерий (Рис. 1).

Анализ электрофореграмм полных клеточных лизатов ряда микобактерий, некоторые из которых являются этиологическими агентами туберкулеза, показал значительные различия в количественном и качественном содержании белков. Так, у *M. tuberculosis* их четыре: с м.м. 120 кДа, 90 кДа, 55 кДа и 45 кДа, тогда как *M. bovis*-8 имеет одну мажорную фракцию с м.м. 55 кДа, а *M. intracellulare* и *M. avium* – по одной мажорной фракции – с м.м. 45 кДа. В отличие от спектров белков других видов микобактерий вакцина VCG имеет значительно большее количество низкомолекулярных белков и малое количество белка с м.м. 45 кДа.

По данным некоторых исследователей [2, 7, 9], указывается на диагностическую ценность антигена с м.м. 45 кДа. В связи с этим, в дальнейших исследованиях проводили наработку антигенов микобактерий с м.м. 45 кДа.