



УДК 579.61

## ВОЗМОЖНОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ О-АГ В ПРОИЗВОДСТВЕ ХОЛЕРНОЙ ХИМИЧЕСКОЙ ВАКЦИНЫ С ПОМОЩЬЮ ДОТ-АНАЛИЗА



С. А. Воробьева, О. С. Дуракова, О. А. Волох, О. В. Громова

Воробьева Светлана Александровна, магистрант кафедры микробиологии и физиологии растений, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Vorobeva-Svetlana2018@yandex.ru

Дуракова Оксана Сергеевна, младший научный сотрудник лаборатории холерных вакцин, ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», Саратов, durakova92@list.ru

Волох Оксана Александровна, кандидат биологических наук, заведующий отделом профилактических препаратов, ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», Саратов, lhv@microbe.ru

Громова Ольга Викторовна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории холерных вакцин, ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», Саратов, gromova.o.64@gmail.com

Холера остается глобальной угрозой для общественного здравоохранения. Даже спорадические случаи завоза инфекции наносят весомый социально-экономический ущерб. В связи со сложившейся ситуацией важную роль в снижении заболеваемости играет разработка и усовершенствование современных безопасных химических вакцин против холеры, вызванной *V.cholerae* O1 и O139 серогрупп, что является важным и перспективным направлением научных исследований.

**Ключевые слова:** дот-иммуноанализ, коллоидное золото, холерная химическая вакцина, О-антиген.

DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-3-318-319

### Введение

На территории Российской Федерации лицензирована вакцина холерная бивалентная химическая, разработанная в РосНИПЧИ «Микроб» и состоящая из холерогена-анатоксина и О-антигенов холерного вибриона сероваров Инаба и Огава. Для характеристики качества и методов контроля специфической активности О-антигена *V.cholerae* как в полуфабрикате вакцины (фракции), так и в готовом препарате (таблетке) в настоящее время используют серологические методы, которые основаны на антигенной активности в реакции непрямой гемагглютинации и в реакции диффузионной преципитации в геле. Постановка данных реакций достаточно трудоемка и длительна по времени, а в случае реакции диффузной преципитации (РДП) малоинформативна. Так как отсутствуют коммерческие наборы по определению специфической активности О-антигена,

то актуален вопрос о разработке и внедрении новых экспрессных методов контроля в процессе производства вакцины. Быстротой, технической простотой и высокой чувствительностью обладает вариант твердофазного иммуоферментного анализа – дот-иммуноанализ (ДИА). В связи с этим целью настоящего исследования являлось изучение возможности применения дот-иммуноанализа для оценки активности О-антигена в полуфабрикате вакцины и готовом препарате холерной химической вакцины.

### Материалы и методы

В качестве антигенных препаратов использовали лиофилизированные специфически стерильные полуфабрикаты холерной вакцины, выделенные из культуральной жидкости путем концентрирования и осаждения серноокислым аммонием. В состав готовой лекарственной формы входят лиофилизированные О-антигены и наполнитель (сахароза, стеарат кальция, тальк и крахмал). Постановка дот-иммуноанализа осуществлялась в двух вариантах: с использованием конъюгата на основе стафилококкового белка А, меченного наночастицами коллоидного золота диаметром 15–17 нм, и вариант дот-ИФА с антиновыми антителами, меченными пероксидазой.

### Результаты и их обсуждение

На первом этапе работы мы провели анализ 15 отобранных образцов специфических фракций О-антигена (концентрация 5 мг/мл) с помощью методов дот-иммуноанализа, реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) и РДП. Результаты, полученные двумя методами дот-иммуноанализа, представляют средние показатели трех определений. Полученные нами данные в некоторых случаях разнятся, причем методика с использованием белка А, меченного коллоидным золотом, показывает больший титр антигена в образце, что может быть связано с большей чувствительностью метода за счет свойств коллоидного золота. Коэффициент корреляции с данными РНГА составляет 0,79, тогда как второй методики 0,58. Для дополнительного количественного учета концентрации антигенов



в исследуемых пробах пользовались денситометрической оценкой реакционных зон с помощью «Универсальной компьютерной программы для количественного учета биохимических реакций» и рассчитали минимальную концентрацию антигена в специфических фракциях, обнаруженную с помощью дот-анализа с белком А, равную 3,92 мкг.

Поскольку ДИА с коллоидным золотом показал большую чувствительность, то на следующем этапе работы мы использовали именно эту методику для определения активности О-антигена в готовой лекарственной форме. Для анализа использовали 5 серий готовой таблетированной химической холерной вакцины. Полученные результаты говорят о том, что ДИА с белком А и коллоидным золотом способен выявлять О-антиген в готовой лекарственной форме вакцины. Коэффициент корреляции с данными РНГА 0,76. Важно, что данный метод не требует сложной пробоподготовки, поскольку наполнители химической вакцины отрицательно влияют на показатели активности антигенов, для проведения РНГА разработана трудоемкая пробоподготовка, включающая щелочной гидролиз растворенной таблетки, тогда как в данной методике она заключается лишь в центрифугировании нативного раствора таблетки при малых оборотах.

### Заключение

Таким образом, в ходе проведенного исследования нами доказана возможность применения дот-иммуноанализа для оценки активности О-антигена в полуфабрикате вакцины и готовом препарате, а также нами впервые предлагается

применять ДИА с использованием конъюгата на основе стафилококкового белка А и коллоидного золота для определения специфических антигенов таблетированной холерной вакцины. Полученные нами данные при постановке дот-анализа в двух вариантах коррелируют с результатами уже используемых в производстве методов оценки активности О-АГ.

### Possibility of Determination of Specific Activity of O-Ag in the Production of Cholera Chemical Vaccine by Dot-Analysis

S. A. Vorobeva, O. S. Durakova,  
O. A. Volokh, O. V. Gromova

Svetlana Vorobyova, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, Vorobeva-Svetlana2018@yandex.ru

Oksana S. Durakova, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», 46, Universitetskaya Str., Saratov, 410005, Russia, durakova92@list.ru

Oksana A. Volokh, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», 46, Universitetskaya Str., Saratov, 410005, Russia, lhv@microbe.ru

Olga V. Gromova, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», 46, Universitetskaya Str., Saratov, 410005, Russia, gromova.o.64@gmail.com

Cholera remains a global threat to public health. Even sporadic cases of importation of the infection cause significant socio-economic damage. In connection with the current situation, the development and improvement of modern safe chemical vaccines against cholera caused by *V. cholerae* O1 and O139 serogroups plays an important role in reducing the incidence, which is an important and promising direction of scientific research.

**Key words:** dot-immunoassay, colloidal gold, cholera chemical vaccine, O-antigen.

---

### Образец для цитирования:

Воробьева С. А., Дуракова О. С., Волох О. А., Громова О. В. Возможность определения специфической активности О-АГ в производстве холерной химической вакцины с помощью дот-анализа // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2018. Т. 18, вып. 3. С. 318–319. DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-3-318-319

### Cite this article as:

Vorobeva S. A., Durakova O. S., Volokh O. A., Gromova O. V. Possibility of Determination of Specific Activity of O-Ag in the Production of Cholera Chemical Vaccine by Dot-Analysis. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2018, vol. 18, iss. 3, pp. 318–319 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-3-318-319

---