

БРУЦЕЛЛЁЗГА ҚАРШИ ДНК ВАКЦИНАЛАРИ**Умаров Б.Р.¹, Ражабов Ғ.Х.¹, Зияев Я.С.¹, Ибрагимов А.А.¹**¹*Тошкент Вакцина ва Зардоблар илмий тадқиқот институти
Тошкент, Ўзбекистон***DNA VACCINES AGAINST BRUCELLIOS****Umarov B.R.¹, Rajabov G'.Kh.¹, Ziyaev Ya.S.¹, Ibragimov A.A.¹**¹*Tashkent Scientific Research Institute of Vaccines and Serums
Tashkent, Uzbekistan***ДНК-ВАКЦИНЫ ПРОТИВ БРУЦЕЛЛЕЗА****Умаров Б.Р.¹, Ражабов Ғ.Х.¹, Зияев Я.С.¹, Ибрагимов А.А.¹**¹*Ташкентский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток
Ташкент, Узбекистан*https://doi.org/10.62209/SPJ/vol4_iss1/art5

Аннотация. Бруцеллёз касаллиги маҳаллий ветеринария ва тиббиёт фани учун долзарб муаммо бўлиб қолмоқда. Ушбу касаллик организмдаги репродуктив функцияларнинг бузилиши ва қишлоқ хўжалиги ҳайвонларининг ўлимига сабаб бўладиган, шунингдек касал одамларнинг ногиронлигига ҳам олиб келадиган касаллик ҳисобланади. Бруцеллёз инфекциясининг ҳайвонлар орасида кенг тарқалиши ва улардан одамларга юқиши билан жуда хавфлидир. Бруцеллез инфекциясининг тарқалиш сабабларидан бири, унга қарши хавфсиз вакциналарнинг йўқлигидир. Сўнгги йилларда хавфли бактериялар ва вирусларга қарши вакциналарнинг янги авлодларини ишлаб чиқаришда молекуляр генетика ва ген муҳандислиги усуллари ривожланиши амалиётга янги авлод вакциналарини яратиш имкониятларини бермоқда. Янги авлод вакциналарини яратиш борасида замонавий ёндошувлар асосида жонли (тирик), генетик модификация қилинган, таркибида бруцеллаларнинг иммунодоминант антигенларини сақловчи ДНК векторли ҳамда адъювантлар билан бириккан микроб ҳужайраларининг антиген комплексида иборат бруцеллёз инфекциясига қарши вакциналар яратилмоқда.

Мақолада бруцеллёз инфекциясига қарши вакциналарни ишлаб чиқишдаги сўнгги ютуқлари ва улардан кенг фойдаланиш истиқболлари тўғрисида маълумотлар келтирилган.

Калит сўзлар: Бруцелла, бруцеллёз, антигенлар, векторли вакциналар, ДНК вакциналари, генетик модификацияланган вакциналар, тирик вакциналар.

Abstract. Brucellosis remains an urgent problem for local veterinary and medical science. This disease is considered to be a disease caused not only by the disruption of reproductive functions in the body and the death of farm animals, but also by the disability of sick people. The spread of brucellosis infection among animals and spread from them to humans is very dangerous. One of the reasons for the spread of brucellosis infection is the lack of safe vaccines against them. In recent years, the wide development of molecular genetics and gene engineering methods in the production of new generations of vaccines against dangerous bacteria and viruses in medicine gives the practice the opportunity to create new generation vaccines. In accordance with modern trends in the development of new generation vaccines against brucellosis infection, live, genetically modified, live attenuated DNA vector based on immunodominant antigens of Brucella, as well as an antigenic complex of microbial cells combined with adjuvants are being created. The article provides information on the latest progress in the development of vaccines against infections of brucellosis bacteria and the prospects for their widespread use.

Keywords: Brucella, brucellosis, antigens, vector vaccines, DNA vaccines, genetically modified

vaccines, live vaccines.

Резюме: Бруцеллез остается актуальной проблемой для ветеринарной и медицинской науки. Это заболевание считается заболеванием, вызванным не только нарушением репродуктивных функций в организме и гибелью сельскохозяйственных животных, но и инвалидизацией больных людей. Распространение бруцеллезной инфекции очень опасно среди животных и передача от них человеку. Причиной является отсутствие безопасных вакцин против них. В последние годы широкое развитие методов молекулярной генетики и геной инженерии при производстве новых поколений вакцин против опасных бактерий и вирусов в медицине дает практике возможность создания вакцин нового поколения. В соответствии с современными тенденциями разработки вакцин нового поколения против бруцеллезной инфекции создаются живой, генетически модифицированный, живой аттенуированный ДНК-вектор на основе иммунодоминантных антигенов бруцелл, а также антигенный комплекс микробных клеток в сочетании с адьювантами. В статье представлена информация о последних достижениях в разработке вакцин против инфекций, вызываемых бактериями бруцеллеза, и перспективах их широкого применения.

Ключевые слова: бруцеллы, бруцеллез, антигены, векторные вакцины, ДНК-вакцины, генно-модифицированные вакцины, живые вакцины.

КИРИШ.

Бруцеллѐз, мальта иситмаси, қора оқсоқ — одам ва ҳайвонларда учрайдиган инфекцион касаллик; Бруцеллезни бруцелла бактериялари қўзғатади, улар ташқи муҳитда (сув, тупроқ, тери ва ҳ. к.) бир неча ой сақлана олади; дезинфекцияловчи воситаларда бир неча минутда нобуд бўлади. Бруцеллалар касал ҳайвонларнинг сути, сийдиги, гўнги, тушган боласи билан ташқарига чиқади, улар шу ҳайвоннинг гўштида ҳам бўлади. Организмга бруцеллалар ҳазм ва нафас йўллариининг шиллиқ пардалари, шунингдек шикастланган териси орқали тушади. Бруцеллѐз билан оғриган молнинг хом сути ва сут маҳсулотлари (пишлоқ, мой), шунингдек чала пиширилган гўшти истеъмол қилинганда касаллик одамга юқади. Бруцеллѐз билан қўпроқ молбоқарлар, чўпонлар, қушхона, терини ошлаш қорхонаси ишчилари ва бошқалар касалланади. Бруцеллѐзда асосан нерв, юрак-томир системаси ва суяк-бўғим аппарати зарарланади. Даво беморнинг умумий аҳволига қараб тайинланади: антибиотиклар, физиотерапия буюрилади. Ҳайвонларда бруцеллѐзни бруцеллалар авлодига мансуб уч турдаги бактериялар, жумладан қўй-эчкиларда *Brucella melitensis*, қорамолларда *Brucella abortus*, чўчқаларда *Brucella suis* қўзғатади. Бундай касалланиш бошқа уй ҳайвонларида ҳам учраши мумкин. Қўй ва эчкиларда учрайдиган бруцеллѐз

одам учун энг хавфли ҳисобланади. Касаллик эпидемиологик, клиник белгилар, бактериологик, серологик ва бошқа текширишлар асосида аниқланади,

Бруцеллѐз - бу дунёнинг 170 дан ортик мамлакатларида кенг тарқалган зооноз (ҳайвонлардан одамларга юқадиган) касаллик ҳисобланади. Бу касаллик ёввойи ҳайвонларнинг 60 га яқин турига таъсир қилиб, деярли барча уй ҳайвонларига юқадиган, қишлоқ хўжалигига катта иқтисодий зарар етказадиган, шунингдек, сурункали инфекцияга ва касалланган одамларнинг ногиронлигига олиб келадиган касаллик ҳисобланади. Ҳайвонлар ўртасида бруцеллезнинг тарқалиши дунёнинг барча давлатларида инсон бруцеллѐзи бўйича мураккаб эпидемиологик вазиятни келтириб чиқармоқда. Ҳайвонлар орасида бруцеллѐз касаллигининг тарқалиши ва улардан одамларга юқиши сабабларидан бири инфекциядан узоқ муддатли ҳимоя қилувчи самарали, хавфсиз вакцинанинг мавжуд эмаслигидир. Бруцеллѐзга қарши, айниқса, инсонларни эмлашга катта зарурат, талаб бор. Ҳозирга вақтгача дунёда тегишли лицензияга эга вакцина мавжуд эмас. Турли мамлакатларда қўлланиладиган бруцеллѐзга қарши жонли (тирик) вакциналар - *Brucella abortus* 19 ВА асосидаги заифлаштирилган вакциналардир. Ушбу вакциналар фақат 18 ёшдан ошган одамларда ва бруцелла билан касалланиш хавфи юқори бўлган инсонларда,

хавф туғилишидан бир ой олдин қўлланилади. *Brucella abortus* 19 BA билан эмлаш ҳомиладор ва эмизикли аёллар, бир қатор касалликлар билан касалланган ва баъзи бир дорилар билан даволанган, шунингдек, илгари бруцеллёз билан касалланган ёки бруцеллёзга ижобий серологик реакцияга эга бўлган шахслар учун тақиқланади. Қайд этилган камчиликлар сабабли ушбу вакцинадан фойдаланишда чорвадорлар, ветеринария шифокорлари, ҳайвонлар маҳсулотлари билан ишлаш корхоналари ишчилари ва бошқа хавфи остида бўлганларга бактериологик лабораторияларда фойдаланиш билан чекланади [1].

***Brucella abortus* C19, *Brucella abortus* RB51, *Brucella melitensis* Rev1** -ҳайвонлар учун дунёдаги энг кенг тарқалган жонли бруцеллёз вакциналари ҳисобланиб, уларни одамлар учун қўллаш тақиқланади, улар касалликка олиб келиши мумкин. *B.abortus* C19 вакцина штамми 8 ойгача бўлган қорамоллар учун ишлатилади, катта ҳайвонларда уни қўллаш бепуштлик (аборт) билан кечадиган сурункали инфекциянинг ривожланишига, шунингдек, патогеннинг сут билан чиқарилишига олиб келиши мумкин. Бундан ташқари, ҳайвонларни эмлаш пайтида одамларнинг ушбу вакцина билан мулоқоти ҳам инфекция юқиши хавфини туғдиради [2]. *B.abortus* RB51 ва *B.melitensis* Rev1 вакциналарининг камчиликларидан бири бу бруцеллёзни даволашда танланадиган дорилар (антибиотиклар) - рифампицин ва стрептомицинга чидамлилигидир. Яъни ушбу вакциналардан фойдаланиш антибиотикларга чидамли генларни бруцелланинг ёввойи штаммига ўтиб олиш хавфини туғдиради [5]. *B.abortus* C19 ва *B.melitensis* Rev1, каби силлиқ турдаги колониялари (S-шакли) бўлган бруцелла вакцина штаммлари ҳайвонлар танасига киритилганда, уларнинг хужайра деворларининг липополисахарид (ЛПС) нинг о-полисахаридига (ОПС) нисбатан анти-тана реакцияси ҳосил бўлади. Бинобарин, анти-ЛПС анти-таналарнинг диагностик титрини аниқлашга асосланган бруцеллёзнинг серодиагностикаси ушбу жараён ҳақида ҳеч қандай маълумот бермайди. Шунингдек, бу вакциналар билан эмланган ва касаллик юқган ҳайвонларни фарқлаш қийинчиликлар

келтириб чиқаради (*differentiation of infected from vaccinated animals (DIVA)*). Юқорида қайд этилган ҳолатлар замонавий технологиялар билан янги самарадор вакциналар яратиш муҳимлигини асословчи мезон сифатида хизмат қилади [3].

Ж.Ко, Е.М. Дорнелес ва бошқа муаллифларнинг фикрига кўра, бруцеллёз билан инфекцияланган ҳайвонларни аниқлашда анти-танани рағбатлантирувчи маҳсулоти йўқлиги ташхис қўйиш жараёнларини мураккаблаштиради. Шунинг учун бруцеллёзга қарши “идеал” тирик бактерияли вакциналар мезбон танада Th1 хужайрали жавоб ҳосил қилишга қодир жонли бактериялардан иборат бўлиши керак. Бундай вакцинанинг бир дозасини организмга безарар киритилгандан сўнг узок муддатли ҳимоя таъсирини таъминлайди - ҳайвонларда касаллик келтириб чиқармайди. Бруцеллёзга қарши тирик вакциналарнинг барча камчиликларига қарамай, уларнинг афзалликлари мавжуд : масалан, тўлиқ иммунитет реакциясини ривожлантириш билан биргаликда танани инфекциядан узок муддатли ҳимоя қилиш имкониятининг мавжудлиги, бу уларни келажақдаги вакциналарга номзод сифатида кўриб чиқишга имкон беради.

Генетик модификацияланган жонли бруцеллёзга қарши вакциналар

Тирик вакциналардан фойдаланиш билан боғлиқ муаммоларини - вирулентлик қолдиғи, серодиагностик қийинчиликлар ва шу кабиларни генетик муҳандислик усуллари ёрдамида ҳал қилиш мумкин. Сўнгги йилларда бруцелланинг генетик модификацияланган “mutant” штаммларига асосланган вакциналарнинг кўплаб вариантлари ишлаб чиқилди ва тажриба ҳайвонларда синовдан ўтказилди. Ҳозирги кунда маълум бўлган барча бруцеллаларнинг 12 турдаги геномларидаги нуклеотидлар кетма - кетлик тартибининг 98% - 99% гача ўхшашлиги уларнинг бир турга яқинлигини намоиш этса [8], уларнинг фенотипик хусусиятлари, организмдаги симбиотик хусусиятига ҳослиги ва патогенлиги билан бир-биридан сезиларли даражада фарқ қилади [5]. Одамларда бруцелланинг *B.abortus*,

B.melitensis, *B.suis* ва камдан-кам ҳолларда *B.canis pinnipedialis* турлари касаллик чакиради. Бруцелланинг *B.canis* ва *B.abesia ovis* дан ташқари барча турлари силлик бактериал фенотипга (S шакл) эга. Бруцелла генларидаги ОПС ЛПС биосинтезини амалга оширувчи генлар (*per*, *pgm*, *manB*, *wboA*, *wbkA*) нинг мутациялари, хужайра колонияларнинг дағал кўринишдаги (R-шакл) ни пайдо қилади ва уларнинг вирулентлигининг заифлаштиради. Яратилган R-формали вакциналарнинг кўпчилиги – тасодифий мутантли штаммлардир, улар антибиотикли озуқа мухитига қайта-қайта экиш натижасида пайдо бўлган хужайралардир. Ҳозирда шундай мутантли штаммлар генетик муҳандислик усуллари ёрдамида олинадилар [6]. *B.abortus S19* вакцина штаммининг *ery-one-ron* қисми 720та нуклеотидни ўз ичига олади ва бу штаммнинг сусайишига олиб келади. Аммо ОПС синтезининг сақланиб қолиши ва натижада ҳайвонларда абортни келтириб чиқариши, одамлар учун вирулентлиги ва ОПСга қарши анти-таналарнинг пайдо бўлишини давом этиши туфайли ташхис қўйишда қийинчиликларни юзага келтиради [7].

Z.Wang тажрибаларида *B.abortus S19* штаммининг геномида *wboA* гени олиб ташлаш, R-фенотипли колониялар ҳосил бўлиши *B.abortus 2308* штамми билан юктирилган чорва молларида ҳомилани сақлаб қолиш имкониятларини пайдо қилишини аниқлаган [8]. Бошқа бир тадқиқотда *B.abortus S2308* вирулент штаммида фосфо-глюкомутаза синтези учун масъул бўлган *pgm*, генини ўчирилиши, дағал турдаги колониялар шаклланишига ва улар сичқонлар учун авирулентлик хоссасига айланиши, хужайранинг иммун тизимини химоясини стимуляция қилиш ва *B.abortus S19* штаммига солиштирганда, бруцеллага қарши химоя қилгандек кўринасада, лекин специфик анти-таналар ҳосил бўлмаслиги ўрганилган [9]. Бундан ташқари, бруцелладаги метаболик йўллари таркибий қисмларини синтез қилиш учун масъул бўлган генларнинг бузилиши туфайли содир бўлган мутант вакциналар ҳам химоя потенциалига эга. Улар орасида *purL*, *purD* ва *purE* генлар (оксил таркибида “пурин” ни биосинтези учун

масъул), *bacA* (липид A ни ёғларини ташувчи) да иштирок этадиган *hemH* (феррохелатаза), *pgk* (фосфоглицераткиназа), *virB* оперони (*SST* -секреция системсининг IV тури), *znuA* (симоб транспорт қилувчи), *BAB1_0542* (АТФ азани транспорт қилувчи- ABC) ларни тақидлаб ўтиш мумкин [10]. Мисол тариқасида, *B.abortus 2308* штамми геномидаги *znuA*, *pgk* ёки *BAB1_0542* генларнинг ўчирилиши натижасида олинган вакциналар (*B.abortus S19* ва *RB51* штаммига солиштирганда) сичқонларда бруцеллездан химоя вазифасини бажаришга олиб келган [4]. *B.abortus 2308* штаммидаги 2та гени бир вақтнинг ўзида ўчириш уларда бруцеллаларнинг қора молларга нисбатан патогенлик хусусиятларининг секинлашишига олиб келган [12]. R.Vemulapalli тадқиқотларида *B.abortus RB51* вакцина штамми геномига Cu/Zn-супероксиддисмутазани синтез қилувчи гени киргизганда, бруцелла таркибидаги шу гени синтез қиладиган оксиллар миқдорининг кўпайишини, *B.suis* дан химоялаш вазифасининг самарадорлигини ошишини кузатган [13]. Гетерологик антигенларни (*Escherichia coli* нинг β -галактозидаза, ис-сиқлик ёрдамида шокка туширилган 65 кДа оксил ва *Mycobacterium tuberculosis* нинг *ESAT-6* ва *Ag85A*), синтез қилувчи антигенлардан иборат *B.abortus RB51* штамми билан сичқонлар вакцинация қилинганда, *IgG2a* ва γ-интерферон (ИФН-γ) ларнинг кўпайиши иммун жавобининг фаоллигининг ошиши *B.abortus RB51* штамми асосида бир неча касаллик тарқатувчи микробларга қарши, кўп маротабалик вакцинация қилиш мумкинлиги ҳақида муҳокамаларни юзага келтирган [14]. Бруцеллезга қарши векторли вакциналар Векторли вакциналардан фойдаланиш, хужайра эгасини (яъни касалланувчи организм) табиийсиз юктириш ва организмда антигенларни кўпайтириш ва шу орқали табиий инфекцияни симуляция қилишга имкон беради. Сўнгги йилларда мана шундай вакциналар бактериялар асосида (*Escherichia coli*, *Ochrobactrum anthrophi*, *Lactococcus lactis*, *Salmonella spp.*, *Yersinia enterocolitica*), ва вируслар асосида *Semliki Forest virus*, *Vaccinia virus*, *Influenza virus*) яратилган [15]. Бир нечта муаллифлар ўз тадқиқотларида бруцелланинг турли хил оксилларини (31

кДа, BCSP31, SOD, OMP3b, OMP19, L7/L12, BLS, prp A) ишлаб чиқарадиган ва уларни *Salmonella* штаммларида сусайтирилган векторли вакцина сифатида қўллашганлиги ва улар самара берганлигини намоён этдилар. C.Newawaduge тадқиқотларида *B.abortus* 544 билан касалланган BALB/c сичқонларга *Salmonella typhimurium* нинг мутантли вакцина штаммини (SOD и OMP19 оксилларини экспрессия қилувчи) антацид бикорбанат натрий тузи билан биргаликда оғиз орқали юборилганда, уларда шиллик ва тизимли иммунитет реакциясини келтириб чиқарди [16]. Векторли вакциналарни ривожлантиришнинг истикболли йўналиши лактобактериялардан фойдаланишдир. Вакциналарни оғиз орқали юборишда уларни яхшилаб тозалашни талаб қилмайди, организмга киритилган вакцина, ошқозон ва ферментларнинг кислотали муҳити таъсиридан қочиб, овқат ҳазм қилиш трактининг шиллик қаватининг чуқур қатламларига гетерологик оксилларни етказиб беради ва шиллик ва тизимли иммунитетни рағбатлантиради. Ушбу мақсадлар учун *Lactococcus lactis* сўнгги йилларда энг кўп ишлатилиб келаётган вакцинадир. *L.Lactis* таркибидаги рекомбинантлар шиллик М-хужайралари орқали кириб фагоцитик хужайраларида кўпайтиб бегона антигенлерини намоён қилиши, организмнинг иммун системасини фаоллаштиришга олиб келади. Кўпгина *L.lactis* нинг экспрессион тизимларидаги оксил ишлаб чиқарилишини “низин” антибиотик томонидан (низин-қўзғатиладиган тизим ёрдамида) амалга оширилади. D.S.Pontes 2003 йил ўз тадқиқотларида *L.lactis* рекомбинант штаммини (низин промотори назоратидаги L7/L12 бруцеллёз оксили ишлаб чиқарувчи) BALB/c сичқонларга оғиз орқали юборганда, уларда гуморал иммун жавоб пайдо бўлиши ва уларнинг нажосларида анти-L7/L12 IgA сезиларли даражада ортишини кузатган [17]. D.Sáez 2012 йил *L.Lactis* геномига *sodC* генни трансформация қилиб, уларни сичқонларга оғиз орқали юборганда, уларда *B.abortus* 2308 вирулент штаммига қарши химояланиш пайдо бўлган [18]. Бруцеллеозга қарши вакциналар ичида иммундоминант генлар иштирокида яратилган мутантли вируслардан IF3, SOD ни

синтез қилувчи *Semliki Forest virus* ва *Influenza virus* лар яхши фаоллик кўрсатди [19]. OMP16, OMP19, SOD ёки L7/L12 ни экспрессия қилувчи грипп вируси *MontanideTM Gel 01* ёрдамида адъювант шаклида хомиладор қўй ва эчкиларга вакцинация қилинганда, 70% чорва молларида *B.melitensis* 16М вирулент штамми билан зарарланишидан химоя қилди [20].

Бруцеллёзга қарши ДНК вакциналари Хозирги кунда Бруцеллёзга қарши ДНК вакциналарини яратиш ва улардан самарали фойдаланиш тадқиқотлари олиб борилмоқда. Бу вакциналар организмга юборилганда ДНК таркибидаги антигенлар организмга узок муддат ичида кириб боради, бу вақт ичида организм хужайраларида антигенларга қарши жавоб реакциялари шаклланади. ДНК вакциналарини бир жойдан иккинчи жойга олиб борилганда, уларнинг геномидаги фаоллиги камаяши ёки бази сабабларга кўра фаоллиги бузилмаслиги учун уларни уларни музлатиш ёки музлаткичларда сақлаш зарур эмас, бундай вакциналарни оламлар учуун хам эмлаш мумкин [21]. Сўнгги йилларда кўплаб тадқиқотлар бруцеллёзга қарши ДНК вакциналарини яратишга бағишланди. Улар орасида L7/L12, BLS, P39, OMP16 и BAB1_0278, генларни синтез қилувчи ДНК вакцинаси сичқонларда *B.abortus* га қарши химоя вазифасини намоён қилди.

ДНК вакциналари, таркибида оксиллар ёрдамида яратилган вакциналарга нисбатан камроқ кучли иммунитет реакцияларини олиб келади деган фикрлар йўқ эмас, лекин, OMP31ни синтез қиладиган ДНК вакциналари, (Фрейнд адъювантига тўлиқ ўралмаган) *B.melitensis* ва *B.ovis* га қарши фойдаланилганда, худди *rOMP31* ли рекомбинант оксилли вакциналар билан бир хил химоя вазифасини бажарган. Таркибида BSL ни синтез қиладиган ДНК вакциналар сичқонлар организмда *B.abortus* инфекциясига қарши шунга ўхшаш рекомбинант оксиллардан кўра самаралироқ эканлигини исботланган [22].

Бруцеллёзга қарши ишлаб чиқилган ДНК вакциналари химоя жиҳатидан тижорат мақсадида сотиладиган жонли сусайтирилган вакциналардан самарадорлиги паст. ДНК вакциналарининг самарадорлигини ошириш

учун турли стратегиялардан фойдаланиш улардан, шу жумладан одамлар учун ҳам кенг фойдаланишимкониятларини беришимиз мумкин. Бруцеллёзга қарши ДНК вакциналарини такомиллаштириш стратегияларидан бири генетик тузилишини (нуклеотидлар кетма кетлиги) ўзгартириш орқали анти-генлар ҳаракатларини ўзгартиришдир. Масалан, тадқиқотларнинг бирида ДНК геномидаги *CMV*-промотор қисми, йирик чорва моллари (*p6*) геномидаги *MHC I* промоторига ўзгартирилганда, геномида *L7/L12* га эга ДНК вакцинасини эмлашда унинг химоя фаолиятини сусайтирганлиги аниқланган [23]. Бошқа томондан, синтезланаётган оксилнинг хужайрадаги жойлашуви нуклеотид кетма-кетликларини ўрнатиш, ёки секреция сигналларини киритиш орқали ҳам ўзгариши мумкин. Масалан, *GroEL* оксилни ишлаб чиқарадиган ДНК вакцинаси, инсон тўқималарида плазминогенни фаоллаштирувчи нуклеотидлар кетма-кетлиги сабабли, инсон организмида бруцеллёз *GroEL* оксилни ишлаб чиқариш учун ишлатилган. Бироқ, ушбу стратегия иммунизация қилинган сичқонларда иммунизация қилинмаган сичқонларга нисбатан паст даражада анти таналар ишлаб чиқаришган [24].

Бруцеллёз оксил секрециясини индукция қилишда, ДНК вакциналарининг самарадорлигини ошириш яхши усулми ёки йўқми ҳозиргача ноъмалум бўлиб қолмоқда. Муқобил стратегия равишда, хужайра ичидаги хабар берувчи “убиквитин” бруцел антигени билан аралашиб янада самарали бўлиши мумкин [25]. Кўпгина ҳолларда бруцеллёзга қарши ДНК вакцинаси билан эмлаш мушак ичига амалга оширилади. Бироқ, бу усул йирик ҳайвонлар ва одамларни эмлаш учун кўп миқдордаги ДНКни талаб қилади. ДНК вакцинаси билан эмлашнинг бир неча (*prime-boost*) схемаси мавжуд бўлиб улар турли инфекцияларнинг олдини олиш учун фойдаланилганда самарадорлигини кўрсатди. Улар организмда рекомбинант оксиллар ёки вирусли векторлар қўшимча кучайтириш сифатида ишлатилишидан олдин антигенга қарши иммунитетни бошлашга имкон беради. Бруцеллёзнинг олдини олиш учун ДНК вакциналарининг ишлаб чиқаришда уларнинг

хавфсизлиги ва фойдаланиш қулайлиги, иммуногеннинг узоқ муддатли давом этиши, хужайрада иммунитетни рағбатлантириш каби афзалликларига қарамай, уларнинг бир неча камчиликларига эга, хусусан, атипик оксилларни қайта ишлаш эҳтимоли, ДНК антигенларни синтез қилиши, хужайралар ўсишини бошқарадиган генларга таъсир қилиш хавфи, ёки антибиотикларга қаршилиқ ишлаб чиқарадиган генларини бактерияларга ва бошқаларга ўтказишдир.

Хулоса

Бруцеллёзга қарши янги самарали ва хавфсиз вакциналарни яратиш зарурати ҳозирда айниқса кескин. Табиий сув омборлари бруцеллёзнинг ёввойи ҳайвонларга, уй ҳайвонлари эса одамларга юқиши учун доимий манба ҳисобланади. Касалликнинг кеч ташхиси ва самарасиз даволаниши сурункали инфекцияга ва беморларнинг ногиронлигига олиб келиши мумкин.

Дунё олимлари томонидан қилинган катта саъй-ҳаракатларга қарамай, одамлар учун халқаро лицензияга эга бруцеллёзга қарши вакцина ҳали ҳам мавжуд эмас. Инсон учун бруцеллёзга қарши вакциналар хавфсиз, самарали бўлиши, узоқ муддатли химояни таъминлаши, касаллик ва маҳаллий ёқитизимли реакцияларни келтириб чиқармаслиги ва бир маротаба ишлатилгандан кейин инфекцияга қарши иммунитетни шакллантиришни рағбатлантириши керак. Одамлар учун вакцинани ишлаб чиқишда уни лицензиялаш учун зарур бўлган бир қатор талабларни ҳисобга олиш керак. Бундай препаратнинг самарадорлиги камида иккита ҳайвон моделида тасдиқланиши керак. Вакцина кичик (масалан, сичқонлар) ва каттароқ ҳайвонларда (одам танасига яқин) синовдан ўтказилиши шарт. Препаратни лицензиялаш учун унинг хавфсизлиги, иммуногенлиги ва одамларда самарадорлигини тасдиқлаш керак. Жонли (тирик) сусайтирилган бруцеллёзга қарши вакциналар иммуногенлиги ва химоя самарадорлиги жиҳатидан потенциал афзалликларга эга бўлсада, одамлар учун бундай вакцинани лицензиялаш қийин бўлиши мумкин. Тирик бруцелла асосидаги вакциналарни ишлаб чиқариш, юқори даражадаги химоя, дори

воситаларининг сифатини доимий назорат қилиш, уларни сақлаш ва ташиш шартларига қатъий риоя қилиш зарурати туфайли қимматга тушади. Алоҳида (Subunit) шаклида яратилган вакциналар одамлар учун хавфсиз ҳисобланади, аммо бруцеллэздан юқори даражадаги ҳимояга эришиш учун одатда бир нечта антиген ва ёрдамчи моддалар (адъювант) нинг комбинациясини яратиш, шунингдек, препаратни такрорий қўллаш керак. Бундан ташқари, тозаланган оксилларга асосланган вакцина совутишни талаб қилиши мумкин, бу дунёнинг бруцеллэз кенг тарқалган баъзи ҳудудларига етказиб

беришни қийинлаштиради. Бундай ҳолда, ДНК вакциналари афзалликларга эгадир, чунки улар хавфсиз, ташқи муҳитда барқарор, бир нечта антигенларни ифодалаши ва уларнинг организмда узоқ муддатли сақланиб қолишини таъминлаши мумкин, шунингдек уларни ишлаб чиқариш оддий ва арзон ҳисобланади. Бруцеллэзга қарши ДНК вакциналари сифатини яхшилаш бўйича турли стратегияларни амалга ошириш янги самарали биопрепаратни яратишга ёрдам беради.

Фойдаланилган адабиётлар

1. Профилактика бруцеллеза: Санитарно-эпидемиологические правила. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2010, 27 с.
2. Эпидемическая опасность бруцеллеза в современных условиях. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. Охупкина В.Ю, Пяткова Н.В, Павлов Д.Л, и др., 2016;15(3):15-22.
3. Lalsiamthara J, Lee JH. Development and trial of vaccines against Brucella. Review. J.Vet.Sci.2017 Aug 31;18(S1):281-290. DOI: 10.4142/jvs.2017.18.S1.281
4. El-Sayed A, Awad W. Brucellosis: Evolution and expected comeback. Int J Vet Sci. Med. 2018 Mar 21;6(Suppl):S31-S35. DOI: 10.1016/j.ijvsm.2018.01.008
5. Scholz HC, Vergnaud G. Molecular characterisation of Brucella species. Rev Sci. Tech. 2013 Apr;32(1):149-62. DOI: 10.20506/rst.32.1.2189
6. Cardoso PG, Macedo GC, Azevedo V, et al., Brucella spp. noncanonical LPS: structure, biosynthesis, and interaction with host immune system Review. Microb. Cell Fact. 2006 Mar 23;5:13. DOI: 10.1186/1475-2859-5-13
7. Sangari FJ, García-Lobo JM, Agüero J. The Brucella abortus vaccine strain B19 carries a deletion in the erythritol catabolic genes. FEMS Microbiol Lett. 1994 Sep 1;121(3):337-42. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1994.tb07123.x
8. Wang Z, Niu J, Wang S, et al., In vivo differences in the virulence, pathogenicity, and induced protective immunity of wboA mutants from genetically different parent Brucella spp. Clin Vaccine Immunol. 2013 Feb;20(2):174-80. DOI: 10.1128/CI.00573-12
9. Comerci DJ, Ugalde JE, Ugalde RA. Development of a New Live Rough Vaccine Against Bovine Brucellosis. In: Makkar H.P., Viljoen G.J. (eds). Applications of gene-based technologies for improving animal production and health in developing countries. Springer, Dordrecht, 2005, p. 743-749.
10. Alcantara RB, Read RD, Valderas MW et al., 2nd. Intact purine biosynthesis pathways are required for wild-type virulence of Brucella abortus 2308 in the BALB/c mouse model. Infect Immun. 2004 Aug;72(8):4911-7. DOI: 10.1128/IAI.72.8.4911-4917.2004
11. Trant CG, Lacerda TL, Carvalho NB, et al. The Brucella abortus phosphoglycerate kinase mutant is highly attenuated and induces protection superior to that of vaccine strain 19 in immunocompromised and immunocompetent mice. Infect Immun. 2010 May;78(5):2283-91
12. Edmonds M, Booth N, Hagius S, et al., 2nd, Elzer P. Attenuation and immunogenicity of a Brucella abortus htrA cycL double mutant in cattle. Vet Microbiol. 2000 Sep 15;76(1):81-90. DOI: 10.1016/s0378-1135(00) 00225-x
13. Vemulapalli R, He Y, Cravero S, Sriranganathan et al., Overexpression of protective antigen as a novel approach to enhance vaccine efficacy of Brucella abortus strain RB51. Infect Immun. DOI: 10.1128/iai.68.6.3286-3289.2000

14. Vemulapalli R, He Y, Sriranganathan N, Boyle SM, et al., Brucella abortus. RB51: enhancing vaccine efficacy and developing multivalent vaccines. Vet. Microbiol. 2002 Dec 20;90(1-4):521-32. DOI: 10.1016/s0378-1135(02)00232-8
15. Baloglu S, Boyle SM, Vemulapalli R, Sriranganathan N, et al., Immune responses of mice to vaccinia virus recombinants expressing either *Listeria monocytogenes* partial listeriolysin or *Brucella abortus* ribosomal L7/L12 protein. Vet Microbiol. 2005 Aug 10;109(1-2):11-7. DOI: 10.1016/j.vetmic. 2005.04.011
16. Hewawaduge C, Senevirathne A, Lee JH. Enhancement of host infectivity, immunity, and protective efficacy by addition of sodium bicarbonate antacid to oral vaccine formulation of live attenuated *Salmonella* secreting *Brucella* antigens. Microb Pathog. 2020 Jan;138:103857. DOI: 10.1016/j.micpath.2019. 103857
17. Pontes DS, Dorella FA, Ribeiro LA, Miyoshi A, Le Loir Y, Gruss A, et al. Induction of partial protection in mice after oral administration of *Lactococcus lactis* producing *Brucella abortus* L7/L12 antigen. J Drug Target. 2003;11(8-10):489-93. DOI: 10.1080/10611860410001670035
18. Sáez D, Fernández P, Rivera A, et al., Oral immunization of mice with recombinant *Lactococcus lactis* expressing Cu,Zn superoxide dismutase of *Brucella abortus* triggers protective immunity. Vaccine. 2012 Feb 8;30(7):128390. DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.12.088
19. Oñate A, Donoso G, Moraga-Cid G, et al., An RNA vaccine based on recombinant Semliki Forest virus particles expressing the Cu, Zn superoxide dismutase protein of *Brucella abortus* induces protective immunity in BALB/c mice. Infect Immun. 2005 Jun;73(6): DOI: 10.1128/IAI.73. 6.3294-3300.2005
20. Mailybayeva A, Yespembetov B, Ryskeldinova S, et al. Improved influenza viral vector based *Brucella abortus* vaccine induces robust B and T-cell responses and protection against *Brucella melitensis* infection in pregnant sheep and goats. PLoS One. 2017 Oct 12; 12(10):e0186484. DOI: 10.1371/journal.pone.0186484
21. Perkins SD, Smither SJ, Atkins HS. Towards a *Brucella* vaccine for humans. Review. FEMS Microbiol Rev. 2010 May;34(3):379-94. DOI: 10.1111/j.15746976.2010.00211.x
22. Zhang F, Li Z, Jia B, et al., Ding J. The immunogenicity of OMP31 peptides and its protection against *Brucella melitensis* infection in mice. Sci Rep. 2019 Mar 5;9(1):3512. DOI: 10.1038/s41598-019-40084-w
23. A Kurar E, Splitter GA. Nucleic acid vaccination of *Brucella abortus* ribosomal L7/L12 gene elicits immune response. Vaccine. 1997;15:1851-7.
24. Leclercq S, Harms JS, Rosinha GMS, et al., Induction of a Th1 type of immune response but not protective immunity by intramuscular DNA immunisation with *Brucella abortus* GroEL heat-shock gene. J Med Microbiol. 2002 Jan;51(1):20-26. DOI: 10.1099/0022-1317-51-1-20
25. Brandsma JL, Shlyankevich M, Zeltermann D, et al., Therapeutic vaccination of rabbits with a ubiquitin-fused papillomavirus E1, E2, E6 and E7 DNA vaccine. Vaccine. 2007 Aug 14;25(33):6158-63. DOI: 10.1016/j.vaccine.2007.06.012

