

замещении классических контрактов неоклассическими и отношенческими. При этом расширение сферы отношенческих и неоклассических контрактов происходит по двум противоположным направлениям: квазиинтернализация и экстернализация. Квазиинтернализация предполагает, что экономические агенты накладывают спектр вертикальных ограничений на своих контрагентов, что обеспечивает введение элементов иерархической координации в структуру рыночных обменов, установление долгосрочных кооперационных взаимосвязей типа «принципал-агент» и вырабатывает универсальный механизм контроля коллективным поведением, не нарушая юридический суверенитет своих партнеров. Экстернализация предполагает, что экономический агент вынужден оперативно реагировать на изменяющиеся условия внешней среды, передавая ряд внутренних бизнес-функций внешним исполнителям на контрактной основе. Формами экстернализации выступают: квазиэкстернализация (встраивание рыночных принципов координации в парадигму межфирменных отношений объединенной структуры) и аутсорсинг (появление юридически и экономически независимых агентов рынка и формирование долгосрочных межфирменных сетевых кооперационных связей).

ЛИТЕРАТУРА: 1. Шумпетер Й.А. История экономического анализа// в книге Истоки: вопросы истории народного хозяйства и экономической мысли. Вып. I. – М.: Экономика, 1998. – С.248-284. 2. Шевко Н.Р. Информационная революция: «созидательное разрушение» // Вестник КЮИ МВД России. Вып. 4(6). – 2011. С.95. 3. Фихтнер О.А. Сетевая предпринимательская культура в России // Экономический журнал. 2011. №1. 4. Тамбовцев В. Л. Введение в экономическую теорию контрактов. - М.: ИНФРА-М, 2004. - 144 с.

СТАНОВЛЕНИЕ ИНФОРМАЦИОННОЙ ЭКОНОМИКИ В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ: ТЕОРИЯ И ПРАКТИКА

Шевко Н.Р. Абубекиров А.С., Мансурова Н.Р.
Резюме

В статье рассматриваются основные этапы становления информационной экономики в России, факторы, влияющие на динамику ее развития. Авторами выделены отдельные стадии развития знания и соответствующие им институты в контексте исследуемой проблемы.

THE EVOLUTION OF THE INFORMATION ECONOMY: THEORY AND PRACTICE

Shevko N.R., Abubekirov A.S., Mansurova N.R.
Summary

The article considers the main stages of the information economy in Russia, the factors which influence the dynamics of its development. The authors separate the stage of development of knowledge and corresponding institutions in the context of the research problem.

УДК619:616-002.5:599.742.43:616-097

ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ АНТИТЕЛОГЕНЕЗА У БАРСУКОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТУБЕРКУЛЕЗЕ

Шуралев Э.А. – к.в.н., доцент, *зав. Научно-инновационного центра
Казанский (Приволжский) федеральный университет,

*Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, г.Казань,
e-mail: eduard.shuralev@mail.ru

Ключевые слова: *Mycobacterium bovis*; серологические методы; микобактериальные антигены.

Key words: *Mycobacterium bovis*; serological methods; mycobacterial antigens.

Туберкулез, вызываемый *M.bovis*, приобретает все более широкое распространение в разных странах, причем возбудитель циркулирует не только в организмах крупного рогатого скота, но и других животных, которые могут быть его потенциальными резервуарами в дикой

природе [6]. В Ирландии, Великобритании, а возможно и в других странах, это связано с циркуляцией *M.bovis* в экосистемах, где основным источником и резервуаром является обыкновенный барсук (*Meles meles*) [7]. Выявление зараженных животных в дикой природе всегда остается проблемой, в особенности, когда отсутствуют эффективные средства диагностики, как в случае с туберкулезом. Малоэффективность имеющихся на сегодняшний день диагностических приемов (туберкулинизация, бактериологические исследования) сподвигнуло нас на изыскание ускоренных серологических методов диагностики, для создания которых наиболее важную роль играет использование высокоэффективных антигенов, что и явилось целью данной работы.

Материалы и методы. Работа проводилась в компании «Enfer Scientific» (г.Нэйс, Ирландия) согласно договору о сотрудничестве между этой компанией, Институтом экологии и природопользования КФУ и ФЦТРБ-ВНИВИ.

Пробы сыворотки крови барсуков, подвергнутых экспериментальному заражению. Для изучения антителогенеза у инфицированных *M.bovis* барсуков были исследованы пробы сывороток крови, полученные из Animal Health and Veterinary Laboratories Agency, Великобритания, где были проведены два экспериментальных исследования эффективности оральной вакцинации барсуков против туберкулеза. Суть этих работ заключается в следующем.

Эксперимент 1. Вакцинация барсуков (опытная группа, n=3: oVS1-67, oVS1-71, oVS1-94) проводилась орально введением через пищевод в дозе 1×10^8 КОЕ *M.bovis* штамма BCG Danish 1331 (Statens Serum Institut, Дания) в жидком виде в фосфатно-буферном растворе. Животные контрольной группы (n=2: kVS1-29, kVS1-37) получили плацебо. Спустя 17 недель после вакцинации все животные (контрольной и опытной групп) подвергались экспериментальному заражению интрабронхиально в дозе 3×10^2 КОЕ культуры полевого штамма *M.bovis* AF 2122/97, выделенного в Великобритании. Для изучения антителогенеза к микобактериальным антигенам нами были исследованы пробы крови барсуков, которые были взяты в ходе данного эксперимента за 2 недели до и через 4, 8 и 12 недель после заражения.

Эксперимент 2. Вакцинация проводилась аналогично описанной в эксперименте 1, при этом животные опытной группы А (n=6: oaVS2-101, oaVS2-313, oaVS2-546, oaVS2-564, oaVS2-591, oaVS2-862) получили вакцину в высокой дозе (1×10^8 КОЕ), а группы Б (n=8, обVS2-126, обVS2-284, обVS2-304, обVS2-343, обVS2-346, обVS2-619, обVS2-779, обVS2-816) – в низкой (1×10^5 КОЕ). Барсуки контрольной группы (n=4: kVS2-118, kVS2-123, kVS2-547, kVS2-811) получили плацебо. Спустя 17 недель после вакцинации все животные (контрольной и опытных групп) подвергались экспериментальному заражению как описано выше. Нами были исследованы пробы крови, которые были взяты у барсуков в ходе второго эксперимента в день и спустя 6 и 15 недель после вакцинации, а также через 2, 6, 8, 12 и 16 недель после заражения, с целью изучения антителообразования к антигенам *M.bovis*.

Антигены для проведения серологических исследований. Рекомбинантные антигены (rESAT-6, rCFP-10, rRv3616c, rPPDb, rMPB70, rMPB83, rAF1, rрJ) и синтетический пептид антигена MPB70 (per1-MPB70), использованные в этом исследовании, были получены по описанной ранее методике [9], и их характеристики тоже описаны [1]. Вкратце, рекомбинантные белки экспрессировались в клетках *Escherichia coli* (N-концевое слияние белков с полигистидином (6xHis)) и очищались до почти гомогенного состояния в Fusion Antibodies Ltd. (Северная Ирландия). Синтетические пептиды были смоделированы, используя базу данных Standard Protein BLAST Центра биотехнологической информации NCBI [8], и синтезированы согласно нашему дизайну в Genosphere Biotechnologies (Франция). Пептиды смешивали с различными буферными растворами в зависимости от их биохимических свойств [1], аликвоты хранили при -20°C . Количественное определение проводили методом анализа содержания белка с использованием микробицинхониновой кислоты (Pierce, Rockford, IL). Антигены наносили в лунки микропланшет, используя роботизированный прибор BioDot3400 [9] в количестве до 10 точек в одной лунке с концентрацией 1-30мкг/мл, объемом 20нл каждый.

Постановка мультиплексного иммуноанализа. Мультиплексный анализ с использованием сенсублизированных микропланшет проводили согласно ранее описанной методике [9] со следующей оптимизацией для использования с сыворотками крови барсука. Пробы в разведении 1:450 (в буферном растворе Enfer А) в объеме 50мкл вносили в лунки микропланшет, с последующей инкубацией в шейкер-инкубаторе в течение 90 мин при 21°C . Планшеты промывали буферным раствором с Твином-20. Антивидовые антитела (антитела против иммуноглобулинов барсука класса G – «CF2/HRPo IgG-HRP», производства VLA, Великобритания) в разведении 1:100'000 (в буферном растворе Enfer В) в объеме 50мкл вносили в лунки микропланшет, с

последующей инкубацией в шейкер-инкубаторе в течение 30 мин при 21°C. Планшеты промывали, как описано выше, и в лунки вносили 40мкл хемилюминесцентного субстрата. Читку реакции и обработку результатов проводили на ридере для мультиплексного анализа с применением специального программного обеспечения как было описано ранее [9]. Уровень антител выражался в относительных световых единицах (ОСЕ), который улавливается в диапазоне от 0 до 65000.

Результаты. В таблицах 1 и 2 показано количество антигенов, к которым антитела выявлялись на уровне более 3000 ОСЕ (условный порог) у каждого отдельно взятого животного в динамике патогенеза до и после заражения культурой полевого штамма *M.bovis* AF 2122/97. В сыворотках крови барсуков 1 и 2 экспериментов до заражения антитела к антигенам *rep1-MPB70*, *rRv3616c*, *rMPB83* не выявлялись, что проявлялось уровнем свечения ниже 1000 ОСЕ. Единично животные реагировали к другим антигенам. Низкие показания зафиксированы к антигенам *rPPDb* (*oaVS2-564*), *rMPB70* (*oaVS2-591* и *oaVS2-862*) и *grJ* (*oaVS2-101* и *obVS2-343*) с уровнем антител менее 3000 ОСЕ. К остальным антигенам отмечался средний уровень – к *rESAT-6* (*кVS2-118* – до 2900 ОСЕ и *obVS2-284* – до 18000 ОСЕ), к *rCFP-10* (*obVS2-284* – до 25000 ОСЕ) и к *grAF1* (*obVS2-343* – до 17000 ОСЕ).

Таблица 1 - Интенсивность антителигенеза к разным микобактериальным антигенам у барсуков эксперимента 1.

Идентификационный номер животного	Количество микобактериальных антигенов, антитела к которым обнаруживались на уровне выше 3000 ОСЕ, по срокам			
	2 недели до заражения	4 недели после заражения	8 недель после заражения	12 недель после заражения
кVS1-29	0	3	6	6
кVS1-37	0	3	6	6
оVS1-67	0	3	3	3
оVS1-71	0	6	6	6
оVS1-94	0	6	6	6

После заражения антителиобразование к различным микобактериальным антигенам проявлялось по-разному. К синтетическому пептиду *rep1-MPB70* антитела выявились только в одном случае. У животного *oaVS2-101* через 2 и 6 недель после экспериментального заражения культурой *M.bovis* AF 2122/97 антитела выявлялись на уровне 5100 и 3100 ОСЕ соответственно. Аналогичная ситуация отмечена в отношении *rPPDb*, когда антитела обнаруживались только у одного животного *oaVS2-313* (рис.1) на 8 и 12 неделю после заражения с уровнем 4300 и 8100 ОСЕ соответственно. В двух случаях выявлялись антитела к антигену *grJ*, причем у животного *obVS2-343* (рис.2) они варьировали на протяжении всего исследования в пределах от 3500 до 7200 ОСЕ, в том числе и в период до заражения, а специфический антителигенез отмечен только у барсука *oaVS2-313*, когда антитела обнаруживались спустя 8 недель после заражения на уровне 6600 ОСЕ, с подъемом до 18600 ОСЕ к 12 неделе и последующим спадом до 8500 ОСЕ к 16 неделе.

Таблица 2 - Интенсивность антителигенеза к разным микобактериальным антигенам у барсуков эксперимента 2.

Идентификационный номер животного	Количество микобактериальных антигенов, антитела к которым обнаруживались на уровне выше 3000 ОСЕ, по срокам						
	11 недель до заражения	2 недели до заражения	2 недели после заражения	6 недель после заражения	8 недель после заражения	12 недель после заражения	16 недель после заражения
кVS2-118	0	0	1	6	6	6	6

кVS2-123	0	0	0	3	6	6	6
кVS2-547	0	0	0	4	6	6	6
кVS2-811	0	0	0	6	6	6	6
оаVS2-101	0	0	1	7	6	6	6
оаVS2-313	0	0	0	4	8	8	7
оаVS2-546	0	0	0	3	6	6	6
оаVS2-564	0	0	0	2	6	6	6
оаVS2-591	0	0	0	6	6	6	6
оаVS2-862	0	0	0	3	6	6	6
обVS2-126	0	0	0	4	6	6	6
обVS2-284	0	2	0	3	6	6	6
обVS2-304	0	0	0	2	6	6	6
обVS2-343	1	1	1	4	6	6	7
обVS2-346	0	0	0	6	6	6	6
обVS2-619	0	0	0	2	6	6	6
обVS2-779	0	0	0	4	6	6	6
обVS2-816	0	0	0	3	6	6	6



Рис.1. Антителогенез у барсука оаVS2-313.

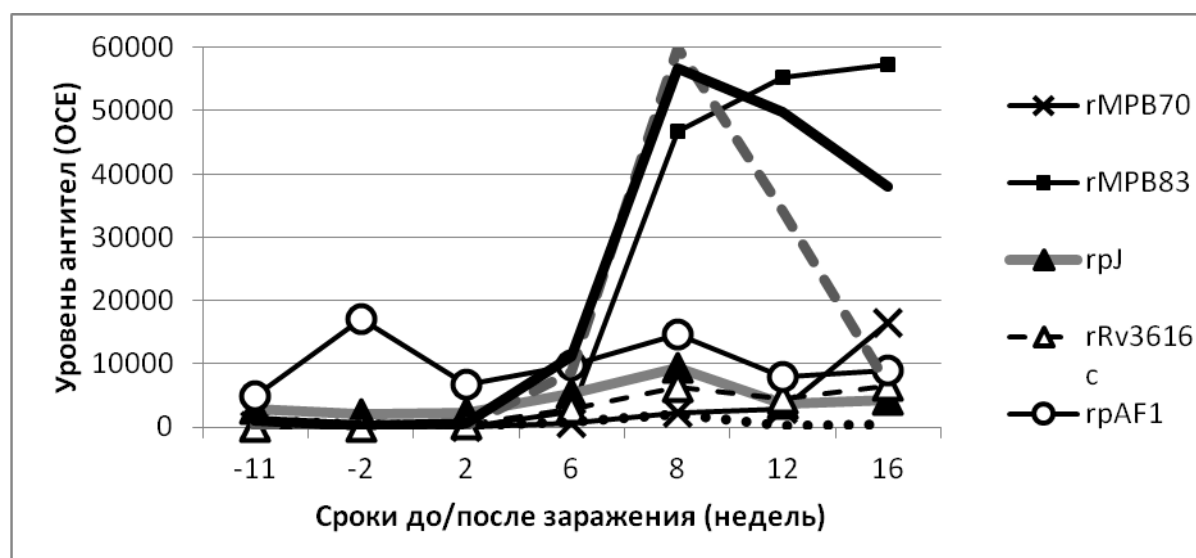


Рис.2. Антителогенез у барсука обVS2-343.

У животных контрольной группы 1-го эксперимента (кVS1-29 и кVS1-37), которые не

подвергались вакцинации, антитела к антигенам rESAT-6, rCFP-10 и rрAF1 выявлялись с 4-й недели после заражения и достигали уровня 8300-26200 ОСЕ. Антителогенез к rRv3616с, rMPB70 и rMPB83 отмечался через 8 и 12 недель после введения полевого штамма (15300-34100 ОСЕ). Аналогичная ситуация наблюдалась с животными контрольной группы 2-го эксперимента (кVS2-118, кVS2-123, кVS2-547, кVS2-811), когда антитела улавливались на диагностическом уровне спустя 6, 8, 12 и 16 недель после заражения, а уровень их достигал 44000-65000 ОСЕ.

У животных опытной группы 1-го эксперимента (oVS1-67, oVS1-71, oVS1-94) антитела к различным антигенам выявлялись с 4-й недели, причем у барсука oVS1-67 только к ранним антигенам rRv3616с, rESAT-6 и rCFP-10 до уровня 9600-12000 ОСЕ, а у двух других до 32000-65000 ОСЕ, в том числе и к rрAF1, rMPB70 и rMPB83. У барсуков опытных групп 2-го эксперимента наблюдалась аналогичная картина, при этом зависимости результатов от дозы вакцины не наблюдалось.

Обсуждение результатов. По завершению экспериментов 1 и 2, животные подвергались эвтаназии и постмортальным исследованиям, в результате которых инфицирование было выявлено у всех животных опытных и контрольной групп, что указывает на отсутствие формирования поствакцинального иммунитета у барсуков на фоне описанной выше оральной вакцинации. Однако пробы сывороток крови от этих животных явились уникальным материалом для проведения исследования микобактериальных антигенов с целью выявления наиболее диагностически значимых. Антигены, секретируемые микобактериями на ранних стадиях развития туберкулеза (ESAT-6, CFP-10, Rv3616с), показывали высокую активность в случаях с другими видами животных [2,3,4], что также подтвердилось и в данных исследованиях с барсуками. Антителогенез к более поздним антигенам был закономерным, в особенности к MPB70, MPB83, и менее выраженным к PPDb и к новым исследованным rрAF1 и rJ. Несмотря на то, что rер1-MPB70 показал высокую активность при исследовании сывороток крови крупного рогатого скота [5], у барсуков он оказался малоэффективным.

Заключение. Инфекционный процесс при туберкулезе барсуков характеризуется интенсивным антителообразованием к микобактериальным антигенам. Выявлена высокая диагностическая значимость таких антигенов как rESAT-6, rCFP-10, rRv3616с, rMPB70, rMPB83 и rрAF1. А антигены rPPDb, rJ и rер1-MPB70 оказались малоэффективными.

ЛИТЕРАТУРА: 1. Шуралев Э.А. Микобактериальные антигены: синтетические пептиды и рекомбинантные белки // Ученые записки КГАВМ. – 2013. – Т.216. – С.403-407. 2. Шуралев Э.А. Сравнительный анализ тест-систем для диагностики туберкулеза у альпак // Ветеринарный врач. – 2012. – №5. – С.30-33. 3. Шуралев Э.А., Мукминов М.Н., Валеева А.Р., и др. Мультиплексный ИФА с хемилюминесцентной меткой для диагностики туберкулеза у кабанов // Ветеринария. – 2013. – №2. – С.25-28. 4. Шуралев Э.А., Мукминов М.Н., Велан К., Кларк Дж. Выявление специфических антител у вапиту при туберкулезе // Ветеринария. – 2013. – №8. – С.54-57. 5. Шуралев Э.А., Ндайишимийе Э.В., Мукминов М.Н. К вопросу серологической диагностики туберкулеза крупного рогатого скота // Ученые записки КГАВМ. – 2012. – Т.211 – С.202-206. 6. Шуралев Э.А., Ндайишимийе Э.В., Мукминов М.Н., и др. Факторы риска и индикация *Mycobacterium bovis* на территориальном уровне // Ученые записки КГАВМ. – 2013. – Т.215. – С.367-371. 7. Fitzgerald S.D., Kaneene J.B. Wildlife reservoirs of bovine tuberculosis worldwide: hosts, pathology, surveillance, and control // Vet Pathol. – 2013. – V.50, №3. – P.488-499. 8. Standard Protein BLAST [Электронный ресурс] // URL: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov> (дата обращения 03.11.2014). 9. Whelan C., Shuralev E., O'Keefe G., et al. Multiplex immunoassay for serological diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle. // Clin Vaccine Immunol. – 2008. – V.15, №12. – P.1834-1838.

ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ АНТИТЕЛОГЕНЕЗА У БАРСУКОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТУБЕРКУЛЕЗЕ

Шуралев Э.А.
Резюме

Используя мультиплексный иммуноанализ изучены микобактериальные антигены и выявлены наиболее эффективные для диагностики туберкулеза у барсуков. Установлена высокая диагностическая значимость таких антигенов как rESAT-6, rCFP-10, rRv3616с, rMPB70, rMPB83 и rрAF1.

PRELIMINARY RESULTS OF THE STUDY OF BADGER ANTIBODY RESPONSE UNDER
EXPERIMENTAL TUBERCULOSIS

Shuralev E.A.
Summary

Using a multiplex immunoassay the mycobacterial antigens have been investigated and the most effective ones for the badger tuberculosis diagnosis have been identified. It was determined that such antigens as rESAT-6, rCFP-10, rRv3616c, rMPB70, rMPB83 and rpAF1 have a high diagnostic significance.