

# ИСПЫТАНИЯ ЭМУЛЬСИОННЫХ ВАКЦИН НА ОСНОВЕ БЕЛЫХ МАСЕЛ, ПОЛУЧЕННЫХ ГИДРОКАТАЛИТИЧЕСКОЙ ПЕРЕРАБОТКОЙ НЕФТЯНОГО СЫРЬЯ

И. В. Пиголева<sup>1</sup>, А. С. Шарыпов<sup>2</sup>, Т. Н. Шабалина<sup>3</sup>, С. В. Заглядова<sup>4</sup>, М. В. Китова<sup>5</sup>, С. А. Антонов<sup>6</sup>, В. В. Михалишин<sup>7</sup>, В. А. Стариков<sup>8</sup>, Д. В. Михалишин<sup>9</sup>

<sup>1</sup> Научный сотрудник ООО «Объединенный центр исследований и разработок» (ООО «РН-ЦИР»), г. Москва

<sup>2</sup> Ведущий ветеринарный врач, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: sharipov@arriah.ru

<sup>3</sup> Советник, доктор технических наук, ООО «Объединенный центр исследований и разработок» (ООО «РН-ЦИР»), г. Москва

<sup>4</sup> Заведующий лабораторией, кандидат технических наук, ООО «Объединенный центр исследований и разработок» (ООО «РН-ЦИР»), г. Москва

<sup>5</sup> Заместитель заведующего лабораторией, кандидат технических наук, ООО «Объединенный центр исследований и разработок» (ООО «РН-ЦИР»), г. Москва

<sup>6</sup> Старший научный сотрудник, кандидат технических наук, ООО «Объединенный центр исследований и разработок» (ООО «РН-ЦИР»), г. Москва

<sup>7</sup> Главный эксперт, доктор ветеринарных наук, профессор, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: mihalishin@arriah.ru

<sup>8</sup> Ведущий научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: starikov@arriah.ru

<sup>9</sup> Заведующий лабораторией, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: mihalishindv@arriah.ru

## РЕЗЮМЕ

Показана возможность использования минеральных белых масел, полученных в результате гидрокаталитической переработки остатка гидрокрекинга вакуумного газойля, в качестве основы для масляного адьюванта эмульсионных вакцин против вируса ящура для сельскохозяйственных животных. Образцы разработанных белых масел исследовали на реактогенность и пирогенность, эмульсионные вакцины – на реактогенность, иммуногенную активность и эмульсионную стабильность, исследования проводили в сравнении с аналогами импортного производства. Перед вакцинацией животных и через 14 сут после нее у животных отбирали пробы крови для получения сыворотки, которую исследовали на наличие антител против вируса ящура в реакции нейтрализации. При оценке реактогенности исследуемых образцов белых масел наименее реактогенным оказался образец БМ 1.4, полученный в про-

цессе гидроизомеризации. При исследовании стабильности эмульсионных вакцин лучший результат в группе представленных образцов и в сравнении с контрольным показал образец В-БМ 1.4. В результате иммунологических испытаний эмульсионная вакцина на основе образца белого масла БМ 1.4 показала наибольшую разницу титра антител за 14 сут – 4,15 log<sub>2</sub>, по сравнению с контрольным – 3,50 log<sub>2</sub>, следовательно, она простимулировала прирост антител против вируса ящура в 17,7 раза, тогда как контрольная эмульсионная вакцина – в 11,3 раза. Вакцины на основе образцов масел БМ 1.3 и БМ 2.2 уступают по данному показателю контрольной вакцине.

**Ключевые слова:** белые минеральные масла, масляные адьюванты, эмульсионные вакцины, гидрокаталитические процессы.

UDC 619:615.371:615.91:665.656

# TESTING OF EMULSION VACCINES BASED ON WHITE OILS OBTAINED AS A RESULT OF HYDROCATALYTIC PROCESSING OF OILSTOCK

I. V. Pigoleva<sup>1</sup>, A. S. Sharypov<sup>2</sup>, T. N. Shabalina<sup>3</sup>, S. V. Zaglyadova<sup>4</sup>, M. V. Kitova<sup>5</sup>, S. A. Antonov<sup>6</sup>, V. V. Mikhailishin<sup>7</sup>, V. A. Starikov<sup>8</sup>, D. V. Mikhailishin<sup>9</sup>

<sup>1</sup> Researcher, OOO "United Centre for Research and Developments", Moscow

<sup>2</sup> Leading Veterinarian, FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: sharipov@arriah.ru

<sup>3</sup> Advisor, Doctor of Science (Engineering Science), OOO "United Centre for Research and Developments", Moscow

<sup>4</sup> Head of the Laboratory, Candidate of Science (Engineering Science), OOO "United Centre for Research and Developments", Moscow

<sup>5</sup> Deputy Head of the Laboratory, Candidate of Science (Engineering Science), OOO "United Centre for Research and Developments", Moscow

<sup>6</sup> Senior Researcher, Candidate of Science (Engineering Science), OOO "United Centre for Research and Developments", Moscow

<sup>7</sup> Chief Expert, Doctor of Science (Veterinary Medicine), professor, FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: mihalishin@arriah.ru

<sup>8</sup> Leading Researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: starikov@arriah.ru

<sup>9</sup> Head of the Laboratory, Candidate of science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: mihalishindv@arriah.ru

## SUMMARY

The paper demonstrates the possibility to use white mineral oils resulting from hydrocatalytic processing of unconverted vacuum gas oil as a basis for an oil adjuvant used in the production of FMD vaccines intended for livestock. Samples of the developed white oils were tested for their reactogenicity and pyrogenicity, and emulsion vaccines were tested for their reactogenicity, potency, and emulsion stability. Tests results were compared with the ones for a foreign analogue. Blood samples were taken from animals before vaccination and 14 days after it to obtain sera which were further tested for FMD antibodies using VNT. Assessment of the white oil sample reactogenicity demonstrated that sample BM 1.4 obtained during hydroisomerization was the least reactogenic. Sample V-BM 1.4 demonstrated the best result in comparison with other samples within the group as well as in comparison with

the control sample during the emulsion stability test. According to the potency test results, the emulsion vaccine based of the white oil sample BM 1.4 demonstrated the greatest difference in antibody titers in 14 days – 4.15 log<sub>2</sub>, while the one based on the control sample – 3.50 log<sub>2</sub>. This means that it the use of this vaccine results in 17.7-fold increase in FMD antibodies, while the use of control emulsion vaccine in 11.3-fold increase. Vaccines based on BM 1.3 and BM 2.2 oil samples demonstrated lower performance in comparison with the control vaccine in terms of these parameters.

**Key words:** white mineral oils, oil adjuvants, emulsion vaccines, hydrocatalytic processes.

## ВВЕДЕНИЕ

Белые масла минерального происхождения представляют собой глубокоочищенные дистиллятные фракции парафино-нафтеновых углеводородов, бесцветность которых обусловлена отсутствием полициклических ароматических углеводородов (ПАУ), тяжелых металлов, серо- и азотсодержащих соединений. Белые масла применяются в медицине и ветеринарии, косметической, фармацевтической, текстильной и пищевой отраслях промышленности, где чистота используемых продуктов имеет первостепенное значение.

Одной из областей применения белых масел является производство масляных адъювантов для ветеринарных эмульсионных вакцин, которые вызывают стойкий и напряженный иммунитет в организме животного и эффективность вакцины зависит не только от количества и качества антигена, способа применения и технологии изготовления препарата, но и от правильного выбора адъюванта – вещества, способствующего повышению иммунного потенциала вакцины.

Эмульсионные вакцины представляют собой растворенный или суспендированный в воде антиген, который диспергируют в масляном адъюванте, состоящем из 95–96% масс. белого масла и 4–5% масс. эмульгатора [5]. Известно, что приготовленные на основе высококачественных белых масел и эмульгаторов эмульсионные вакцины успешно применяются для профилактики ящура у крупного рогатого скота (КРС) [4].

В настоящее время в России отсутствует производство белых масел, используемых в эмульсионных вакцинах. Отечественные производители, используя устаревший метод кислотно-контактной очистки, вырабатывают порядка 8 тыс. т белых масел в год, из которых только 3–4 тыс. т соответствуют требованиям ГОСТ 3164-78 или спецификациям фармакопей [2].

Ведущий отечественный институт по разработке и производству ветеринарных биопрепаратов – ФГБУ «ВНИИЗЖ» в настоящее время для производства моновалентных (содержащих антиген одного вируса) эмульсионных вакцин против вируса ящура использует импортные масляные адъюванты типа Montanide ISA 70 VG (Seppic, Франция), содержащие минеральное белое масло Marcol 52 (ExxonMobil, США). Годовая потребность ФГБУ «ВНИИЗЖ» в масляных адъювантах составляет около 40 т.

Таким образом, разработка современной отечественной технологии производства белых масел с применением гидрокаталитических процессов является актуальной и направлена на замещение импортных продуктов.

Настоящее исследование посвящено испытаниям белых масел, полученных по разработанной в ООО «РН-ЦИР» технологии, а также эмульсионных вакцин на их основе на реактогенность, пирогенность и иммуногенную активность в сравнении с импортными аналогами.

### **Требования к белым маслам для эмульсионных вакцин**

Изучение нормативных документов (фармакопей и директив) [8, 10–13], регламентирующих использование белых масел, показало, что минеральные белые масла для изготовления эмульсионных вакцин должны соответствовать высокому уровню качества: быть глубокоочищенными, свободными от ароматических и серосодержащих углеводородов, состоять главным образом из насыщенных углеводородов (парафиновых

и нафтеновых). Также к основным требованиям относится отсутствие запаха, воды, механических примесей, органических соединений и летучих веществ. Масла должны иметь высокую термическую и химическую стабильность, нейтральное значение pH [14].

Основными показателями белых масел, которые характеризуют уровень их чистоты и, как следствие, возможные области применения, являются: цвет по Сейболту, значения оптической плотности при УФ-поглощении на определенных диапазонах длин волн и наличие органических примесей [11, 12]. Углеводородный состав белых масел (высокое содержание нафтеновых, парафиновых и полное отсутствие ароматических углеводородов) является не менее важной характеристикой. Ввиду высокой канцерогенности смол и ПАУ их присутствие в составе масляных адъювантов недопустимо. Такие требования продиктованы тем, что в точке введения вакцины образуется местное воспаление тканей, которое в зависимости от реактогенных свойств масла может дать реакцию в виде гранул, отеков, свищей, что отрицательно сказывается на жизнедеятельности животных.

Также нежелательны для изготовления эмульсионных вакцин минеральные масла с кинематической вязкостью при 20 °C выше 20 мм<sup>2</sup>/с.

Масла растительного происхождения непригодны для использования в качестве адъювантов, так как быстро разлагаются в организме, не успевая создавать напряженный иммунитет [9].

Использование масляных адъювантов в составе вакцин предусматривает приготовление дисперсных систем – эмульсий различного типа: «вода – масло» (обратная), «масло – вода» (прямая) или «вода – масло – вода» (множественная). Введение животным масляного адъюванта и антигена в исходном состоянии не обеспечивает иммуностимулирующего эффекта. Для формирования долгосрочного иммунитета при иммунизации сельскохозяйственных животных наиболее широко используется эмульсия обратного типа «вода – масло». Для приготовления эмульсионных вакцин данного типа растворенный или суспендированный в воде антиген диспергируется в масляном адъюванте, в результате чего капельки воды с антигеном находятся в масляной фазе. При этом для стабилизации эмульсии обязательно присутствие эмульгатора, в качестве которого часто применяют неионогенные ПАВ: Арлацел А (маннид моноолеат), Твин-80 (оксиэтилированный сорбитан), а также эфиры ангидроманнита и олеиновой кислоты [1, 6].

Целью исследований было определение физико-химических параметров полученных белых масел, реактогенности у лабораторных и естественно-восприимчивых животных, пирогенности, а также уровня гуморального иммунитета у привитых животных.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

*Объекты исследования:* шесть лабораторных образцов белых масел (БМ 1.1, БМ 1.2, БМ 1.3, БМ 1.4, БМ 2.1, БМ 2.2); масло Marcol 52; адъювант Montanide ISA 70 VG. В качестве эмульгатора использовали «продукт 139».

*Масляные адъюванты* для проведения испытаний готовили путем смешивания белого масла и эмульгатора (4% масс.). На их основе были приготовлены моновалентные эмульсионные вакцины: В-БМ 1.1, В-БМ 1.2, В-БМ 1.3, В-БМ 1.4, В-БМ 2.1, В-БМ 2.2. Контрольный

**Таблица 1**  
**Физико-химические характеристики разработанных образцов белых масел и контрольного образца**

Показатель	БМ 1.1	БМ 1.2	БМ 1.3	БМ 1.4	БМ 2.1	БМ 2.2	Marcol 52 (контроль)
Кинематическая вязкость при 40 °С, мм <sup>2</sup> /с (ASTM D 445)	5,681	6,103	10,590	8,440	17,370	14,500	7,150
Плотность при 20 °С, г/см <sup>3</sup> (ASTM D 4052)	0,8466	0,8455	0,8382	0,8482	0,8454	0,8487	0,8330
Температура застывания, °С (ГОСТ 20287-91 (Б))	–12	–8	–22	–22	–8	–23	–20
Температура вспышки в открытом тигле, °С (ASTM D 92)	148	147	156	–	–	186	150
Содержание ароматических УВ, % масс. (IP 391/01)	0,3	0,2	0,5	0	0,2	0,03	0
Содержание n-алканов/и-алканов/алкенов, % масс. (ASTM D 5442)	44,9/54,1/0,8	50,8/48,0/1,0	25,2/70,2/0,3	30,8/67,8/0	30,7/67,0/1,4	19,2/79,0/0,1	36,9/61,9/1,2
Содержание сернистых соединений, ppm (ASTM D 4294)	1	5	3	0	6	0	1
Показатель преломления при 20 °С (ASTM D 1218)	1,4640	1,4640	1,4634	1,4661	1,4660	1,4674	1,4590
Цвет по Сейболту (ASTM D 156)	плюс 30	плюс 30	плюс 30	плюс 30	плюс 26	плюс 30	плюс 30
Испытание на присутствие органических примесей (ASTM D 565)	Выдерживает	Выдерживает	Выдерживает	Выдерживает	Выдерживает	Выдерживает	Выдерживает
Максимум поглощения/см (ASTM D 2269):							
282–289 нм	0	0	0	0	0	0	0
290–299 нм	0	0	0	0	0	0	0
300–329 нм	0	0	0	0	0	0	0
330–350 нм	0	0	0,12	0	0,16	0	0,02
Содержание групп углеводородов: парафиновые/нафтеновые/ароматические, % масс. (ASTM D 2140)	54,6/45,4/0	55,4/44,6/0	68,1/31,9/0	57,3/42,7/0	68,8/31,2/0	66,4/33,6/0	67,0/33,0/< 0,1
Кислотное число (ASTM D 664)	0,03	0,03	0,03	0,02	–	–	–
Фракционный состав (ASTM D 2887)							
Н.К.	205,3	203,2	172,7	189,9	222,9	218,9	239,9
К.К.	419,9	401,1	459,1	482,0	533,5	459,1	461,8

образец эмульсионной вакцины был изготовлен на основе импортного масляного адьюванта Montanide ISA 70 VG. При изготовлении моновалентных эмульсионных вакцин с типом эмульсии «вода – масло» использовали образцы масляного адьюванта и инактивированный культуральный антиген вируса ящура, штамм А № 2177/Амурский/2013, в соотношении 60 и 40% масс. соответственно.

*Животные:* белые мыши массой 18–20 г, кролики породы советская шиншилла массой 1,5–2 кг, крупный рогатый скот голштино-фризской породы массой 250–300 кг.

Образцы разработанных белых масел исследовали по таким параметрам, как реактогенность и пирогенность, образцы эмульсионных вакцин – на реактогенность, иммуногенную активность и эмульсионную стабильность. Все исследования проводили в сравнении с импортными аналогами Marcol 52 (ExxonMobil, США) и Montanide ISA 70 VG (Seppic, Франция).

Оценку реактогенности белых масел проводили на белых мышах.

Реактогенность – воспалительная реакция организма на начало образования антител при вакцинации, являющаяся необходимым условием для развития иммуногенных процессов. Однако дозы масла, введенные в организм животного вместе с вакциной, должны быть слабо или умеренно реактогенными, чтобы не вызвать сильных воспалительных реакций, таких как отеки, абсцессы, гранулемы, свищи, или даже смерть животного [3].

Критерием оценки служит коэффициент реактогенности ( $K_p$ , %) – изменение массы лап после инъекции испытуемых образцов относительно массы лап после инъекции контрольного образца:

$$K_p = \frac{x_0 - x_k}{x_k} \times 100\%,$$

где  $x_k$  и  $x_0$  – средние арифметические массы лап после введения контрольного и испытуемого образцов масел соответственно.

Определение пирогенности проводили на здоровых кроликах, нормальная температура тела которых составляет 38,5–39,5 °С.

Пирогенность – нежелательная побочная реакция организма животных на вмешательство посторонних веществ, следствие бурно протекающей защитной реакции организма на действие вакцины, вызывающая локальный разогрев ткани в месте введения препарата [3].

Пирогенность образцов белых масел определяли в сравнении с маслом Marcol 52 и без введения масла. Было сформировано 8 групп животных по 3 кролика в каждой, которым вводили образцы белых масел подкожно по 1 см<sup>3</sup>. Изменение температуры тела ( $\Delta t$ ) каждого животного в группе определялось как разница между максимальной ( $t_{\max}$ ) в течение 10 сут и средней первоначальной температурой ( $t_{\text{ср}}$ ), измеряемой в течение 3 сут до начала эксперимента:  $\Delta t = t_{\max} - t_{\text{ср}}$ , °С.

Стабильность эмульсионной вакцины является важным параметром, определяющим возможность ее долгосрочного хранения. Стабильность эмульсий определяли при температурах 37, 25 и 4–8 °С в течение 28 сут.

Эмульсию считают стабильной, если после центрифугирования при визуальном контроле не отмечается никаких изменений ее внешнего вида. Изменения структуры эмульсии выражаются количественными (в мм) и качественными (расслоение/разрушение) показателями:

- А – прозрачное масло в верхней части эмульсии;
- В – жидкая эмульсия – эмульсия мутная;
- С – нормальная эмульсия – эмульсия чистая и прозрачная;
- Д – плотная эмульсия – эмульсия ярко-белого цвета;
- Е – водная часть нижнего слоя эмульсии.

Оценку реактогенности эмульсионных вакцин проводили на КРС. На каждый образец вакцины использовали группу из 3 голов КРС, которым вводили препарат подкожно в среднюю треть шеи. На 10-е сут после инъекции исследовали места введения путем измерения длины, ширины, высоты олеогранулемы. Объем олеогранулемы рассчитывали по формуле

**Таблица 2**  
Результаты оценки реактогенности белых масел на мышах

Образец	$x_{\text{в}}$ , г	$x_{\text{к}}$ , г	$K_{\text{р}}$ , %
БМ 1.1	2,2	3,0	36
БМ 1.2	2,0	2,5	25
БМ 1.3	2,2	2,0	–9
БМ 1.4	2,0	1,5	–25
БМ 2.1	2,0	2,0	0
БМ 2.2	2,4	2,15	–10,4

$$V = l \times b \times h,$$

где  $l$  – длина (мм),  
 $b$  – ширина (мм),  
 $h$  – высота олеогранулемы (мм).

За критерий оценки реактогенности эмульсионных вакцин ( $K_{\text{РВ}}$ , % – коэффициент реактогенности вакцин), приготовленных на основе образцов белых масел, принимали процент объема олеогранулемы иммунизированных животных, приведенный к объему олеогранулемы животных, иммунизированных контрольным образцом (вакцина на основе Montanide ISA 70 VG):

$$K_{\text{РВ}} = \frac{V_0 - V_{\text{к}}}{V_{\text{к}}} \times 100\%,$$

где  $V_0$  и  $V_{\text{к}}$  – объем олеогранулемы животных, иммунизированных вакцинами на основе лабораторных образцов белых масел и контрольной вакциной на основе Montanide ISA 70 VG соответственно.

Иммуногенная активность – способность вакцины вызывать иммунный ответ вне зависимости от его иммунной специфичности [3]. Каждый образец вакцины испытывали на группе из 3 голов КРС.

Перед введением вакцин в ткани животных и через 14 сут после вакцинации отбирали пробы крови, которые исследовали на наличие антител против вируса ящура данного типа в реакции нейтрализации. Титр вируснейтрализующих антител выражается в  $\log_2$ .

**Таблица 3**  
Результаты оценки пирогенности белых масел на кроликах

Образец	Номер группы	Средняя температура тела после введения масел, °С								$\Delta t$
		сутки								
		0	1	2	3	4	8	9	10	
БМ 1.1	1	38,9	39,1	38,6	38,5	38,6	38,7	38,7	38,8	0,2
БМ 1.2	2	39,2	39,2	38,5	38,5	38,4	38,6	38,7	38,7	0
БМ 1.3	3	39,2	39,2	39,0	38,9	38,8	38,7	38,6	38,8	0
БМ 1.4	4	38,8	38,9	38,6	38,5	38,4	38,4	38,3	38,3	0,1
БМ 2.1	5	38,9	39,3	38,9	39,0	38,8	38,7	38,6	38,6	0,4
БМ 2.2	6	38,8	39,2	38,9	38,9	38,7	38,8	38,7	38,6	0,4
Marcol 52	7	38,9	38,9	38,8	38,7	38,7	38,8	38,9	38,8	0
–	8	38,8	38,7	38,6	38,7	38,6	38,7	38,7	38,8	–



**Таблица 5**  
**Результаты исследования реактогенности эмульсионных вакцин на КРС**

Образец эмульсионной вакцины	Номер группы КРС	$V_{cr}$ , см <sup>3</sup>	КРВ, %
В-БМ 1.1	1	36	20
В-БМ 1.2	2	50	66,6
В-БМ 1.3	3	20	-33,3
В-БМ 1.4	4	4	-86,6
В-БМ 2.1	5	15	-50
В-БМ 2.2	6	30	1
ISA 70 VG (контрольный)	7	$V_k = 30$	0

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследуемые образцы белых масел получены в соответствии с разработанной и запатентованной [7] в ООО «РН-ЦИР» технологией получения гидродеароматизированных белых масел гидрокаталитической переработкой остатка гидрокрекинга вакуумного газойля. Полученные образцы белых масел (БМ 1.1, БМ 1.2, БМ 1.3, БМ 1.4, БМ 2.1, БМ 2.2) отличаются вязкостью, фракционным и углеводородным составом (табл. 1).

В соответствии с представленными физико-химическими характеристиками все исследуемые образцы белых масел, за исключением образца БМ 2.1, имеют максимальное значение цвета по Сейболту, выдерживают испытания на присутствие органических примесей и УФ-поглощение. Сопоставление физико-химических свойств разработанных белых масел и Marcol 52 показало, что они по всем параметрам соответствуют импортному аналогу.

Оценка реактогенности исследуемых образцов белых масел (табл. 2) показала, что образцы БМ 1.1 и БМ 1.2 с положительными коэффициентами реактогенности (отек лап мышей после инъекции этими маслами превышает отек лап после инъекции контрольным маслом) не проходят испытания. Образец БМ 2.1 обладает реактогенностью на уровне контрольного масла. Образцы БМ 1.3, БМ 1.4 и БМ 2.2 имеют отрицательный коэффициент реактогенности и превосходят контрольное масло по этому показателю. Таким образом, из 6 лабораторных образцов белых масел испытание по реактогенности прошли 4 образца: БМ 1.3, БМ 1.4, БМ 2.1 и БМ 2.2, причем наименее реактогенным является образец белого масла БМ 1.4, полученный в процессе гидроизомеризации.

Результаты измерений температур на протяжении 10 сут в каждой группе кроликов представлены в таблице 3.

Исследуемый образец считали апирогенным, если после его введения ни у одного из трех подопытных кроликов ни при одном из трех измерений не наблюдали повышения температуры тела больше чем на 0,6 °С по сравнению с исходной температурой и в сумме повышение температуры тела при каждом измерении у трех кроликов не превышало 1,15 °С. Рост температуры тела животных в течение опыта в среднем по группе не превышал 0,4 °С, что указывает на апирогенность исследуемых масел.

Результаты исследований стабильности эмульсионных вакцин (табл. 4) показали, что у образцов В-БМ 1.1

и В-БМ 1.2 после центрифугирования проявилась водная фаза на дне пробирки, что недопустимо. При температурах 25 и 37 °С у образцов В-БМ 1.1, В-БМ 1.2, В-БМ 2.1 наблюдалось отслоение водной фазы на дне пробирки на 7-е сут. У образца В-БМ 1.2 при температурах 4–8 °С отслоение водной фазы на дне пробирки наблюдали на 7-е сут. Отслоение водной фазы у контрольного образца произошло на 7-е сут при температурах 37 и 25 °С. Образец В-БМ 1.4 на протяжении всего опыта показал стабильность эмульсионной вакцины, что является лучшим результатом как в группе представленных образцов белых масел, так и в сравнении с контрольным образцом.

Оценка реактогенности (табл. 5) показала, что эмульсионные вакцины на основе образцов белых масел БМ 1.1 и БМ 1.2 имеют наиболее высокий КРВ в сравнении с другими образцами. Реактогенность вакцины на основе образца БМ 2.2 находится на уровне контрольного образца. Эмульсионные вакцины на основе БМ 1.3, БМ 1.4 и БМ 2.1 характеризуются меньшей реактогенностью по сравнению с контрольным образцом. Лучшим по данному параметру оказался образец БМ 1.4, полученный в процессе гидроизомеризации.

В результате исследования иммуногенной активности (табл. 6) эмульсионная вакцина на основе образца белого масла БМ 1.4 показала наибольшую разницу титра антител за 14 сут – 4,15  $\log_2$ , в том числе по сравнению с контрольным с разницей титра антител 3,50  $\log_2$ . Это означает, что эмульсионная вакцина на основе белого масла БМ 1.4 простимулировала прирост антител против вируса ящура в 17,7 раза, тогда как контрольная эмульсионная вакцина – в 11,3 раза. Следовательно, эмульсионная вакцина на основе разработанного белого масла БМ 1.4 в 6,4 раза активнее контрольной вакцины на основе Montanide ISA 70 VG. Вакцины на основе белых масел БМ 1.1, БМ 1.2, БМ 2.1 характеризуются иммуногенной активностью на уровне контрольной вакцины, а на основе образцов БМ 1.3 и БМ 2.2 уступают по этому показателю контрольной вакцине.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенных испытаний показали, что экспериментальные образцы белых масел, полученные путем гидрокаталитической переработки остатка гидрокрекинга вакуумного газойля по разработанной в ООО «РН-ЦИР» технологии, по физико-химическим показателям не уступают зарубежному аналогу.

**Таблица 6**  
**Результаты исследования иммуногенной активности эмульсионных вакцин на КРС**

Образец эмульсионной вакцины	Номер группы КРС	Титр антител против вируса ящура, log <sub>2</sub>		Разница между конечными и начальными титрами антител, log <sub>2</sub>	Прирост антител против вируса, × раз
		до вакцинации	14-е сут после вакцинации		
В-БМ 1.1	1	2,65 ± 0,29	5,95 ± 0,40	3,30	9,85
В-БМ 1.2	2	2,20 ± 0,21	5,50 ± 0,18	3,30	9,85
В-БМ 1.3	3	3,05 ± 0,18	5,60 ± 0,10	2,55	5,86
В-БМ 1.4	4	1,70 ± 0,15	5,85 ± 0,31	4,15	17,75
В-БМ 2.1	5	2,70 ± 0,36	6,15 ± 0,48	3,45	10,93
В-БМ 2.2	6	2,45 ± 0,21	5,15 ± 0,27	2,70	6,50
ISA 70 VG (контрольный)	7	2,45 ± 0,21	5,95 ± 0,37	3,5	11,3

Сравнительные испытания иммунобиологических свойств белых масел и эмульсионных вакцин на их основе позволили определить перспективные образцы масляных адъювантов для возможного их использования в производстве противоящурных вакцин.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адъюванты в современной вакцинологии / Е. Ю. Исаенко, Е. М. Бабич, И. В. Елисеева [и др.] // *Анналы Мечниковского института*. – 2013. – № 4. – С. 5–21.
2. Белые масла – производство, требования, технологии / С. В. Заглядова [и др.] // II Ежегодная междунар. конф. «Масла и топлива СНГ», 27–29 мая 2014 г.
3. Большой медицинский энциклопедический словарь / под ред. В. И. Бородулина. – 4-е изд., испр. и доп. – М.: Рипол Классик, 2007. – 960 с.
4. Мамков Н. С. Масляные адъюванты для противоящурных вакцин: дис. ... д-ра вет. наук. – Владимир, 1999. – 255 с.
5. Медуницын Н. В. Вакцинология. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Триада-Х, 2004. – 448 с.
6. Михалишин В. В., Мамков Н. С. Адъюванты и их использование // *Тр. Федерального центра охраны здоровья животных: матер. Междунар. науч. конф. «Инфекц. патология ж-ных»*, посвящ. 50-летию ФГУ «ВНИИЗЖ». – 2008. – Т. 6. – С. 340–371.
7. Способ получения маловязких белых масел: пат. 2549898 Российская Федерация / Е. В. Кашин, С. В. Заглядова, Т. Н. Шабалина [и др.]; ОАО «Нефтяная компания «Роснефть». – № 2014105866/04; заявл. 18.02.14; опубл. 10.05.2015.
8. ФС.2.2.0004.15 Масло вазелиновое // *Государственная фармакопея Российской Федерации*. – Т. 3. – 13-е изд. – М.: ФЭМБ, 2015. – 1292 с.
9. Шабалина Т. Н. Разработка технологии производства нефтяных маловязких масел с применением гидрокаталитических процессов: дис. ... д-ра техн. наук. – Москва, 1999. – 361 с.
10. *European Pharmacopeia 8.0. Vol. 1–2 / Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare of the Council of Europe (EDQM)*. – 8<sup>th</sup> ed. – Strasbourg, 2014.
11. FDA 21 CFR 172.878. Food additives permitted for direct addition to food for human consumption. White mineral oil. – URL: <https://www.accessdata.fda.gov/SCRIPTS/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=172.878>.
12. FDA 21 CFR 178.3620. Indirect food additives: adjuvants, production aids and sanitizers. Mineral oil. – URL: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?FR=178.3620>.
13. *The United States Pharmacopeia 38 – National Formulary 33*. – 38<sup>th</sup> ed. – 2015.
14. *Vaccine Adjuvants: Preparation Methods and Research Protocols / ed. D. T. O'Hagan // Methods in Molecular Medicine / ed. J. M. Walker*. – Totowa, NJ: Humana Press, Inc., 2000. – Vol. 42. – 342 p.