

Выводы

На основании результатов проведенных нами экспериментов можно заключить, что минимальная инфицирующая доза культуры штамма *Bg. ovis* 8406 для морских свинок составила 1 млн микробных клеток, а для баранчиков — 500 млн микробных клеток.

При проведении опытов на морских свинках и овцах по изучению эффективности инактивированной адьювант-вакцины «ЭВАК» для экспериментального заражения с целью проверки напряженности иммунитета нами будет использоваться культура *Bg. ovis* 8406 с установленной в опытах минимальной заражающей дозой.

А.В. Павлова, М.П. Альбертян

ИММУНОГЕННЫЕ СВОЙСТВА ИНАКТИВИРОВАННОЙ АДЬЮВАНТ-ВАКЦИНЫ «ЭВАК» В ОПЫТЕ НА МОРСКИХ СВИНКАХ

Успешному развитию овцеводства в определенной степени препятствуют инфекционные болезни, одной из которых является заболевание овец, вызываемое *Bg. ovis* (инфекционный эпидидимит баранов). Болезнь распространена во всех странах мира и причиняет значительный экономический ущерб. Широкий практический опыт показал, что методы профилактики инфекционного эпидидимита (ИЭ) баранов и оздоровления неблагополучных хозяйств путем выполнения организационно-хозяйственных, ветеринарно-санитарных мер и проведение регулярных диагностических исследований требуют больших экономических затрат, длительны и нередко малоэффективны. В связи с этим весьма актуальна задача по разработке надежных и экологически безвредных средств специфической профилактики болезни. С момента открытия возбудителя инфекционного эпидидимита баранов (1953) было испытано более десятка различных вакцин: химические, убитые формалином и другими способами препараты, масляно-адьювант-вакцины, на основе интактных и диссоциированных штаммов *Bg. abortus* (19, 45/20), *Bg. melitensis* (53Н38), *Bg. ovis*, а также живые — разных видов и с разной степенью изменчивости: *Bg. abortus* 19, 104-М, 16/4, *Bg. melitensis* Rev-I, К-24, «Невский-12» и др.

Обобщая литературные данные по изучению реактогенных и иммуногенных свойств вакцин, указанных выше, можно отметить, что отдельные из них не соответствуют требованиям по безвредности (вакцины 45/20, 53 Н38 — Т.К. Касымов, 1985, 1988), часть — по резко выраженным агглютиногенным свойствам (штаммы 19,

104-М — Е. Biderstein, М. Cowan, R. Harzold, 1962; L. Kater, V. Hartley, 1963; Т. К. Касымов, 1988) и некоторые по недостаточно выраженным иммуногенным свойствам. К концу 70-х годов благодаря исследованиям П. А. Триленко, Т. Н. Огородниковой, Л. И. Комисаровой (1976), Б. А. Аманжолова (1977, 1978), В. И. Ким (1979), Б. Н. Афанасьева (1980) определились в основном три вакцины, заслуживающие внимания для их дальнейшего изучения в сравнительном аспекте. Это живые вакцины из штаммов *Bg. melitensis* Rev-I, К-24 и «Невский-12». И. А. Косилов, А. Г. Хлыстунов, К. В. Шумилов и У.Э. Ниязов провели сравнение свойств этих трех вакцин. В экспериментальных условиях при искусственном заражении животных вирулентной культурой *Bg. ovis* иммуногенность вакцины из штамма Rev-I была в 2 раза выше, чем у вакцинных штаммов К-24 и «Невский-12». Вакцина Rev-I создавала иммунитет у 80% животных, к 24 месяцам он сохранялся еще у 42,9% и к 36 месяцам полностью угасал. Подобные данные, подтверждающие высокие иммуногенные свойства вакцины из штамма Rev-I, получили в своих исследованиях Б.А. Аманжолов (1977, 1978), В.И. Ким, Н.С. Вождаев (1976, 1979), Л.А. Малышева (1985), R. Fensterbank, P. Pardon, J. Marly (1982). На протяжении многих лет в комплексе мер борьбы с ИЭ баранов использовалась профилактическая иммунизация овец и баранов-производителей живой вакциной из штамма Rev-I, но ее применение было ограничено только отдельными регионами, неблагополучными по бруцеллезу овец.

В лаборатории микобактериозов ВИЭВ разработана новая, экологически безопас-

Таблица 1

Схема опыта по сравнительному изучению иммуногенных свойств вакцины «ЭВАК» и Rev-I

№№ групп	Вакцина	Количество морских свинок в группе	Доза вакцины в микробных клетках
1	«ЭВАК»	10	250 млн
2	Rev-I	10	100 млн
3	Контроль	10	не вакцинированы

Таблица 2

Результаты сравнительного изучения иммуногенных свойств инактивированной адьювант-вакцины «ЭВАК» и живой вакцины Rev-I *Bv. melitensis* на морских свинках

Вакцинный штамм	Количество животных в группе	Заражающий штамм и его доза	Срок убоя после заражения	Заразилось голов	Иммунных		Выделено культур		
					голов	%	всего	из лимфоузлов	из органов
ЭВАК	10	<i>Bv. Ovis 8406</i> 100 млн	38 дней	2	8	80	2	2	0
Rev-I	10			4	6	60	6	5	1
Контроль	10			10	0	0	41	28	13

ная, высокоиммуногенная инактивированная адьювант-вакцина «ЭВАК» против инфекционного эпидидимита баранов.

Преимуществом данной вакцины является то, что она может быть рекомендована для иммунизации поголовья овец против инфекционного эпидидимита в зонах, благополучных по бруцеллезу овец.

Вакцина «ЭВАК» представляет собой взвесь инактивированных бруцелл вида овис и гидроокиси алюминия в виде однофазной жидкости серовато-белого цвета.

Мы изучали на морских свинках иммуногенные свойства инактивированной адьювант-вакцины «ЭВАК» в сравнении с живой вакциной Rev-I *Bv. melitensis*.

Материалы и методы

Для иммунизации морских свинок использовали двухсуточную агаровую культуру, выращенную из сухой вакцины Rev-I *Bv. melitensis*. Вакцину вводили морским свинкам в количестве 10 голов подкожно в область паха в дозе 100 млн микробных клеток. Для введения вакцины «ЭВАК», серия № 11, готовили общую пробу из 3 флаконов с вакциной. Иммунизировали 10 морских свинок. Вакцину вводили подкожно в область паха в дозе 250 млн микробных клеток (таблица 1).

Серологические исследования — РДСК с овисным антигеном, РСК, РА, РБП с бруцеллезным единым антигеном проводили через 15, 30 дней после вакцинации и в дальнейшем ежемесячно, а после заражения вирулентной культурой — через 15 и 30 дней.

Иммунитет у вакцинированных морских свинок проверяли путем подкожного

заражения вирулентной культурой *Bv. ovis 8406* через четыре месяца после иммунизации. Культуру этого штамма предварительно оттитровали на морских свинках. Было установлено, что минимальная инфицирующая доза для морских свинок составляет 1 млн микробных клеток по оптическому бруцеллезному стандарту. Одновременно с иммунизированными морскими свинками заразили 10 контрольных (не привитых).

Через 38 дней после заражения подопытных и контрольных (не привитых) животных убили для бактериологического и патанатомического исследования.

Высевы из селезенки, костного мозга, семенников с придатками, печени, сердца, почек, легких, подчелюстных, шейных, паховых и гипогастральных лимфатических узлов проводили на мясо-пептонный печеночный глюкозо-глицериновый бульон с добавлением 10% нормальной лошадиной сыворотки (1 пробирка) и на аналогичный агар (2 пробирки).

Бактериологические высевы инкубировали в термостате в течение 30 суток при температуре 37–38° С.

Просматривали посевы еженедельно в течение двадцати дней. Полученные вторичные культуры проверяли РА на стекле овисной сывороткой и проводили микроскопию мазков, окрашенных по методу Козловского или по Шуляку-Шин.

Результаты исследований

Критерием иммуногенного состояния морских свинок служило отсутствие вирулентной культуры *Bv. ovis 8406* в их орга-

низме при бактериологическом исследовании.

На вскрытии морских свинок патологоанатомические изменения обнаружены в основном у животных контрольной группы. У всех свинок этой группы селезенка была увеличена, в отдельных случаях бугристая, а из лимфатических узлов изменения наблюдались в основном в паховых правых (регионарных к месту введения вирулентной культуры). Они были сильно увеличены. У 4 животных из 10 были увеличены также шейные лимфоузлы.

Результаты бактериологического исследования представлены в таблице 2.

Из анализа данных таблицы 2 видно, что иммуногенная активность изучаемых вакцин была различной. Наиболее иммуногенной для морских свинок оказалась инактивированная адъювант-вакцина «ЭВАК». Из 10 иммунизированных этой вакциной морских свинок экспериментальному заражению 100 ИД₁₀₀ культуры *Bt. ovis* 8406 противостояло 8 голов (80%), а из 10 морских свинок, привитых вакциной из штамма *Bt. melitensis* Rev-I, — 6 голов (60%).

Все контрольные (не вакцинированные) морские свинки заразились. У них

развился генерализованный инфекционный процесс. При этом выделена 41 культура: 28 из лимфоузлов, 13 — из органов. Это служит основанием судить о том, что для заражения подопытных и контрольных животных была взята достаточная доза вирулентного штамма *Bt. ovis* 8406.

У морских свинок, привитых инактивированной адъювант-вакциной «ЭВАК», положительная РДСК с овисным антигеном и РСК, РА, РБП с бруцеллезным единым антигеном получена через 15, 30, 60, 90 и 120 дней после иммунизации и через 15, 30 дней после заражения у всех животных.

У морских свинок, привитых живой вакциной из штамма Rev-I *Bt. melitensis*, РДСК с овисным антигеном была отрицательной во все сроки исследования у всех животных, а РСК, РА и РБП с бруцеллезным единым антигеном — положительной.

Закключение

При однократной иммунизации морских свинок инактивированной адъювант-вакциной «ЭВАК» и живой вакциной из штамма Rev-I *Bt. melitensis* и при заражении их вирулентной культурой *Bt. ovis* 8406 иммуногенность вакцин составила 80 и 60% соответственно.

УДК 578.832.1:578.23

Р.Я. Подчеряева, Е.И. Исаева, Г.А. Данлыбаева, Г.Р. Михайлова

РЕПРОДУКЦИЯ ВИРУСОВ ГРИППА В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК МОЗГА ХОРЬКА *MUSTELA PUTORIUS FURO*

В настоящее время в мире отмечается сложная эпидемиологическая ситуация, т.к. с 1997 г. отмечаются вспышки птичьего гриппа (H5N1, H7N7, H9N2), который не только приводит к гибели домашних птиц, но и вызвал около 300 случаев заболевания человека с высоким уровнем летальности [8, 10].

Известно, что наиболее перспективной моделью для изучения вирусов гриппа являются хорьки, которые в силу экономических причин не всегда доступны исследователям. Поэтому нами для изучения птичьего вируса H5N1 применялась клеточная линия мозга хорька (Mpf) из Коллекции культур клеток Института вирусологии, представленной в отечественных и зарубежных каталогах.

Рядом исследователей было отмечено,

что в последние эпидемии гриппа, вызванные вирусом А (H3N2), с 1998 г. среди больных нередко наблюдались проявления неврологического синдрома [3, 15].

Исходя из этого, мы изучили репродукцию вирусов гриппа человека H1N1, H3N2 и В, выделенных не только в последние, но и более ранние эпидемические годы, на модели клеток Mpf, а также другой нервной ткани (глиобластоме человека GL6) в сравнении с 2 другими клеточными линиями: почек собак (MDCK) и клетками легкого эмбриона человека (ЛЭЧ).

Материалы и методы исследования

Культуры перевиваемых клеток: линия нервных клеток мозга хорька (Mpf) культивируется в среде DMEM с 10% эмбриональной телячьей сывороткой (ЭТС) фирмы «ПанЭко» с индексом пролифера-