

2. Т.Н. Лезова, В.В. Борисов, Н.А. Улулов, В.В. Михалишин. Очистка вируса ящура водорастворимым полимером // Вирусные и микробные болезни ж-ных: Сб. науч. трудов. Владимир, 1995. С. 226–232

3. Т.Н. Лезова., Н.А. Улулов, В.В. Борисов и др. Пат. 2054039 Российская Федерация, МПК<sup>6</sup> С 12 N 7/02. Способ очистки и стерилизации культурального вируса ящура / Заявитель ВНИИЗЖ. Заявл. 07.02.92; опубл. 10.02.96, Бюл. № 4. 1 с.

УДК 619:578.835.2:616-085.371

Д.В. Михалишин, Н.Д. Клюкина, Н.Н. Ходакова, Т.Н. Лезова

## РОЛЬ АДЪЮВАНТОВ В ПРОТИВОЯЩУРНОЙ ВАКЦИНЕ ДЛЯ ЭКСТРЕННОЙ ЗАЩИТЫ

### Введение

Ящур является наиболее значимым заболеванием парнокопытных животных, которое распространено во многих странах мира и наносит серьезный экономический ущерб животноводству.

Наиболее эффективная стратегия борьбы с ящуром — убой зараженных и контактировавших с ними животных. Но такая политика требует истребления большого количества восприимчивых животных, создает трудности с утилизацией трупов, характеризуется потерей ценного генетического материала и резким сокращением поголовья на конкретной территории. Поэтому самым прагматичным подходом в борьбе с ящуром является вакцинация, которая может использоваться в различных сочетаниях [2]. Для специфической профилактики этого заболевания широко применяют моно- и поливалентные вакцины из инактивированного культурального вируса ящура. Однако, иммуногенная активность противоящурных вакцин зависит не только от количества и качества используемого антигена и технологии получения препарата, но и от правильного выбора неспецифических иммуностимуляторов.

Быстрое развитие иммунитета считается идеальным свойством инактивированной вакцины.

Динамика нарастания иммунитета у восприимчивых животных в зоне вспышки будет служить барьером для вируса, приведет к сдерживанию инфекции и ее купированию в первичном очаге. Желательно, чтобы защита обеспечивалась быстро и затем сохранялась достаточно долго, не требуя ревакцинации [1, 3, 4].

Целью работы было подобрать адъювант для создания иммунитета у КРС и свиней, способного защитить животных в первые дни после вакцинации против гомологичного вируса ящура.

### Материалы и методы

В опытах использовали моновалентную сорбированную вакцину с сапонином из культурального вируса ящура Азия-1 Иран 58/99 с содержанием 146S+75S компонентов в количестве 31,9 мкг, 24 мг ГОА и 1,5 мг сапонины в прививной дозе 2 мл — вакцина № 1.

Вакцина № 2 — вакцина № 1, смешанная 1:1 с адъювантом Montanide ISA-206 с образованием эмульсии вода–масло–вода.

Вакцина № 3 — вакцина № 1, смешанная 1:1 с раствором полиакриловой кислоты (ПАК), рН 7,5, М.м. 800000 Д.

Подсвинки массой 40–50 кг и крупный рогатый скот (КРС) — 250–300 кг. Свиньям вакцину вводили внутримышечно, КРС — подкожно.

Контрольное заражение КРС проводили через 4 дня после вакцинации путем введения в слизистую оболочку языка афтозного вируса Азия-1 Иран 58/99 в дозе  $10^4$  ИД<sub>50</sub>/0,2 мл.

Учет результатов проводили через 7 дней после заражения.

Гуморальный иммунитет у свиней определяли в реакции нейтрализации через 3, 7, 10 дней после вакцинации (ДПВ) против 100 ТЦД<sub>50</sub> вируса, титры вируснейтрализующих антител (ВНА) рассчитывали по методу Рида и Менча и выражали в log<sub>2</sub>.

### Результаты исследований

Исследования были проведены для определения формирования раннего иммунитета на введение вакцины, содержащей различные адъюванты с использованием контрольного заражения гомологичным вирусом ящура.

Анализ результатов, представленных в табл. 1, показал, что скорость развития иммунитета после инъекции вакцины №1 была высокой уже через 3 ДПВ, и уровень ВНА увеличивался к 10 дню после вакцинации.

Таблица 1  
**Результаты испытания различных типов вакцин с целью обеспечения ранней защиты подсвинков**

Вакцина	Прививная доза (мл)	Количество 146S+75S компонентов (мкг в прививной дозе)	Количество животных в опыте	Количество ВНА ( $\log_2$ ) в сыворотке крови на		
				3 ДПВ	7 ДПВ	10 ДПВ
№ 1	2,0	31,9	4	4,92±0,08 p<0,001	6,08±0,46 p<0,01	6,00±0,14 p<0,001
№ 2	1,0	7,97	4	2,44±0,66 p<0,05	3,94±0,63 p<0,01	4,88±0,56 p<0,005
№ 3	2,0	15,95	4	4,17±0,68 p<0,05	n/o	7,5±0,14 p<0,001

Вакцина № 3 индуцировала количество ВНА на 3 ДПВ меньше, чем вакцина № 1, но превосходила ее на 10 ДПВ, хотя она и содержала в прививной дозе в 2 раза меньшее количество специфического антигена.

Развитие иммунитета на введение вакцины № 2 было более замедленным как на 3-й, так и на 10-й день после вакцинации. Скорость нарастания иммунитета зависела от количества вирусного белка в дозе в первые дни после введения вакцины. Все испытанные вакцины формировали достаточный уровень защиты на 3 день после вакцинации, способный защитить животных от контрольного заражения.

Иммунитет, формируемый сорбированной вакциной с сапонином (№ 1), с адъювантом Montanide ISA – 206 (№ 2), с полиакриловой кислотой (№ 3), был достаточным, чтобы привитые животные противостояли контрольному заражению вирусом ящура гомологичного типа (таблица 2).

Иммунологическая перестройка организма была активнее на вакцины с масляным адъювантом и ПАК, чем на сорбированную с сапонином, так как аналогичная защита достигается в два раза меньшим количеством специфического антигена.

Обсуждение результатов исследований

Многие исследователи, изучавшие иммунный ответ свиней на сорбированные вакцины с сапонином, пришли к выводу о низкой иммуногенности таких вакцин для данного вида животных [1, 3]. Однако мы

определили хороший уровень иммунитета в первые 3 дня после вакцинации при введении сорбированной вакцины с сапонином, содержащей 31,9 мкг специфических компонентов вируса ящура в прививной дозе.

Добавление к сорбированной вакцине с сапонином дополнительных адъювантов ISA-206 и ПАК усилило иммунный ответ, так как аналогичная защита была достигнута с меньшим количеством антигена.

Купирование первичных очагов инфекции с помощью вакцинации будет успешным только в случае, если используемые препараты формируют иммунитет у привитых животных в первые 1–3 дня после инъекции [2].

Исследованные вакцины можно использовать для купирования первичных очагов инфекции, так как достаточный уровень иммунитета у привитых животных отмечен через 3-4 дня после вакцинации. Введение дополнительных адъювантов играет важную роль в обеспечении необходимого иммунного статуса животных, так как это повышает эффективность вакцины.

#### Заключение

Для создания раннего иммунитета против ящура основным фактором является количество вируссpezifического антигена в прививной дозе.

Адъюванты, ПАК и ISA-206 усиливают и пролонгируют иммунный ответ сорбированной вакцины.

Таблица 2  
**Проявление иммуногенности различных типов вакцин для КРС через 4 дня после вакцинации**

Вакцина	Прививная доза (мл)	Количество 146S+75S компонентов (мкг в прививной дозе)	Количество животных в опыте	Результаты контрольного заражения	
				Первичные афты	Генерализация
№ 1	2,0	31,9	3	2/3	нет
№ 2	2,0	15,95	3	0/3	нет
№ 3	2,0	15,95	3	1/3	нет

## РЕЗЮМЕ

В работе представлены исследования по определению раннего иммунного ответа у свиней и крупного рогатого скота на третий день после введения сорбированной противоящурной вакцины типа Азия-1, содержащей различные адъюванты (сапонин, полиакриловую кислоту (ПАК), Montanide ISA-206). Вакцины с дополнительными адъювантами предложены для использования при купировании первичных очагов ящурной инфекции, так как способны создавать иммунитет, достаточный для защиты животных на 3-4 день после заражения.

## ABSTRACT

In the paper the stadz of an early immune response in pigs and cattle on day 3 after vaccination with sorbated FMD Asia-1 Iran 58/99 vaccine containing different adjuvants (saponin, polyacrylic acid, Montanide ISA-206) is described. Vaccines with additional adjuvants were suggested for control of primary FMD outbreaks as they were capable of inducing immunity sufficient for protection of animals on the third and fourth day after infection.

## Литература

1. А.Н. Бурдов, А.И. Дудников, П.В. Малярец и др. Ящур / под ред. А.Н. Бурдова / М.: Агропромиздат, 1990. 320 с.
2. А.И. Дудников, В.М. Захаров, С.А. Дудников. Альтернативная стратегия ликвидации ящура // Тр. Федерального центра охраны здоровья животных. Владимир, 2005. Т. 3. С. 34–48.
3. А.И. Дудников, В.М. Захаров, В.В. Михалишин и др. Особенности противоящурного иммунитета у свиней // Сучасні ветеринарні та технологічні аспекти свинарства: науково-практ. Конф. Київ, 2002. С. 10–12.
4. J.S Salt, L. Williams, R. Statham, P.V. Barnett. Further studies on the rate of development of protection in cattle given emergency vaccination against of FMD // Europ. Commis. Control FMD. Vienna, Austria, Sept. 1994. Rome, 1994. P. 90–97.

УДК 619:616.98:578.835.2:616-085.371

**Н.Н. Ходакова, Н.Д. Клюкина, В.А. Стариков**

## ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВЯЩУРНОЙ ВАКЦИНЫ А, О, АЗИЯ-1 В ПОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ

### Введение

Ящур — высококонтагиозное заболевание парнокопытных, которое является одним из наиболее значимых в экономическом отношении. Систематическая вакцинация животных для создания необходимого иммунного фона и принятие других санитарных мер позволяет быстро ликвидировать возникшие очаги ящура

В 2005 году вспышки ящура типа Азия-1 были зарегистрированы среди животных Амурской области, Хабаровского и Приморского краев. Предположительно вирус был занесен из КНР, так как известно, что ситуация по ящуру в этой стране в первом полугодии 2005 г. значительно осложнилась. В апреле-июле 2005 г., по данным МЭБ, там были выявлены случаи заболевания ящуром типа Азия-1 [1, 2, 5].

Для возбудителя ящура, в том числе и типа Азия-1, характерна антигенная изменчивость. Антигенные изменения могут выражаться от незначительных отличий между штаммами, улавливаемых только с помощью точных методов молекулярного анализа, до появления совершенно отличающихся штаммов. Это затрудняет диагностику и вакцинопрофилактику заболевания,

вызываемого этими штаммами. Последние вспышки ящура на Дальнем Востоке были вызваны штаммами, антигенно отличающимися от тех, которые используются для производства вакцины [2, 3, 4, 5].

### Материалы и методы

Для изготовления вакцины использовали культуральный вирус ящура типов: О№1734 «Приморский», А<sub>22</sub> № 550, Азия-1 Иран 58/99, выращенный в суспензии клеток ВНК-21/2-17, с титром инфекционности не менее 7,0 lg ТЦД<sub>50</sub>/мл и содержанием 146S+75S компонентов не менее 1,5мкг/мл.

Инактивация вируса проводилась аминоэтилэтиленимином (АЭЭИ) в количестве 0,05% в течение 12 часов при 37° С.

Авирулентность инактивированного аминоэтилэтиленимином антигена контролировали на культуре первично трипсицинизированных клеток почки свиньи (СП), а готовой вакцины — на крупном рогатом скоте (КРС). При этом пяти неиммунным животным вводили 2мл вакцины в 20 точек слизистой оболочки языка по 0,1мл в каждую.

Изготовили сорбированную вакцину, содержащую в прививном объеме 2 мл 146S+75S компонентов, по типу Азия-1