



На правах рукописи

НЕСТРЕЛЯЕВ Степан Сергеевич

**ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ И МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ
ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСТВАКЦИНАЛЬНОГО ИММУНОГЕНЕЗА
ПРИ ИНФЕКЦИОННОМ ЭПИДИДИМИТЕ БАРАНОВ**

Специальность – 16.00.03 – ветеринарная микробиология, вирусология,
эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

Специальность – 16.00.02 – патология, онкология и морфология животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

– 1 ОКТ 2009

Москва – 2009

Работа выполнена в ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им Я.Р.Коваленко» (ГНУ «ВИЭВ») (г. Москва)

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук
АЛЬБЕРТЯН Мкртич Погосович
(ВИЭВ)

Официальные оппоненты: Заслуженный деятель науки РФ,
доктор ветеринарных наук, профессор
ШУМИЛОВ Константин Васильевич
(ФГУ ВГНКИ)

доктор ветеринарных наук, профессор
БРАГИН Геннадий Иванович
(МГУПБ)

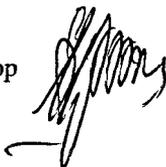
Ведущая организация: ФГОУ ВПО Московская Государственная Академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И.Скрябина (ФГОУ ВПО МГАВМиБ).

Защита состоится «23» октября 2009 г. в 14⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д **212.149.03** при ГОУ ВПО «Московский государственный университет прикладной биотехнологии» (МГУПБ) по адресу: 109316, Москва, ул. Талалихина, д. 33

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Московского государственного университета прикладной биотехнологии.

Автореферат разослан «9» сентября 2009 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат ветеринарных наук, профессор



И.Г. Серегин

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

1.1. Актуальность темы. В настоящее время немаловажной проблемой инфекционной патологии овец являются заболевания, вызываемые бруцеллами – инфекционный эпидидимит баранов (ИЭБ) и бруцеллез мелкого рогатого скота.

Многолетняя борьба с ИЭБ путем проведения только лишь общих организационно-хозяйственных и ветеринарно-санитарных мероприятий оказалась недостаточно эффективной. Внедрение средств специфической профилактики в комплекс противозооотических мероприятий, позволило значительно повысить их эффективность (В.И. Ким, 1978; Б.Н. Афанасьев, 1980, А.Н. Касьянов, В.А. Ромахов, 1980, В. Аманжолов, 1981; М. Afsal, C.V. Kimberling, 1986; А.Ф. Руденко, 1987, Г.Ш. Абулхаиров, В.А. Ромахов, 1991). Поэтому многие исследователи за рубежом и в нашей стране занимаются изысканием более эффективных противобруцеллезных вакцин.

В ВИЭВ в лабораторных условиях в 80-х годах была разработана инактивированная адьювант-вакцина против инфекционного эпидидимита баранов из штамма 64/2 *B. ovis*. В дальнейшем, в результате многократных пересевов на питательные среды в культуре штамма *B. ovis* стало наблюдаться явление реверсии бруцелл, из-за чего вакцина приобрела новые, нехарактерные для нее свойства и перестала отвечать первоначальным требованиям. В связи с этим было решено заменить штамм 64/2 *B. ovis* более стабильным. Для этих целей было предложено использовать полевой штамм 10/2 *B. ovis*.

Соответственно стала актуальной задача изучения основных биологических свойств экспериментальной инактивированной адьювант-вакцины из штамма 10/2 *B. ovis* в сравнительном аспекте с инактивированной адьювант-вакциной из штамма 64/2 *B. ovis* и живой вакциной из штамма Rev-1 *B. melitensis*.

Не менее важной является задача изучения патологии мочевыделительной системы, развивающейся при хроническом течении инфекционного эпидидимита баранов.

1.2. Цель и задачи исследования.

Цель работы – иммунологическая и морфологическая характеристика поствакцинального иммуногенеза при инфекционном эпидидимите баранов. В число поставленных задач входили.

- изучение основных биологических свойств штамма 10/2 *B. ovis*;
- сравнительное изучение антигенных, вирулентных, иммуногенных и других свойств экспериментальной вакцины из штамма 10/2 *B. ovis*, вакцины из штамма 64/2 *B. ovis* и вакцины из штамма Rev-1 *B. melitensis*;
- сравнительное изучение патоморфологических изменений в органах и тканях животных при иммунизации вакцинами из штаммов 10/2 *B. ovis*, 64/2 *B. ovis* и Rev-1 *B. melitensis*;
- изучение патоморфологических изменений в органах и тканях у баранов при естественном течении ИЭ,

- анализ особенностей проявления эпизоотического процесса при инфекционном эпидидимите баранов в разных регионах Российской Федерации в течение 1976-2008 гг

1.3. Научная новизна исследований. Сконструирована адъювант-вакцина из штамма 10/2 *B. ovis* против инфекционного эпидидимита баранов. Показана безвредность, умеренная реактогенность, антигенность и высокая иммуногенность экспериментальной серии препарата на белых мышках, морских свинках, кроликах и баранах.

Дана сравнительная оценка поствакцинального иммуногенеза у морских свинок и баранов, после однократной иммунизации экспериментальной вакциной из штамма 10/2 *B. ovis*, вакциной из штамма 64/2 *B. ovis* и живой вакциной из штамма Rev-1 *B. melitensis*

Показан полиморфизм патологических изменений у баранов при естественном течении инфекционного эпидидимита

По данным за 1976-2008 гг. впервые охарактеризованы динамика, закономерности и региональные особенности проявления эпизоотического процесса инфекционного эпидидимита баранов в Российской Федерации.

1.4. Практическая значимость исследований. Предложена новая адъювант-вакцина из штамма 10/2 *B. ovis* против инфекционного эпидидимита баранов.

Проведен анализ эпизоотических данных по инфекционному эпидидимиту баранов в целом по России за 1976-2008 гг. и создана соответствующая электронная база данных. Результаты эпизоотического анализа могут быть использованы для совершенствования противоэпизоотических мероприятий при ИЭБ.

Изучены патоморфологические изменения в мочеполовой системе при хроническом течении инфекционного эпидидимита баранов.

1.5. Личный вклад соискателя заключается в проведении серологических, бактериологических, иммунологических и патоморфологических исследований на белых мышках, морских свинках, кроликах и баранах, а также в создании электронной базы данных по эпизоотическому состоянию и анализе эпизоотических данных по инфекционному эпидидимиту баранов в Российской Федерации. Отдельные этапы работы выполнены совместно с к.в.н. О.В. Якушевой, членом-корреспондентом РАСХН, д.б.н., проф. Ю.Н. Федоровым, к.в.н. М.И. Исхандаровым, за что автор выражает им сердечную благодарность

1.6. Апробация работы. Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на межлабораторных совещаниях сотрудников ВИЭВ им. Я.Р.Коваленко в 2008 и 2009 гг. и на Международной научно-практической конференции «Современные средства и методы диагностики, профилактики и лечения инфекционных, протозойных и микотических болезней сельскохозяйственных и промысловых животных, рыб и пчел» (Москва, 2009)

1.7. Публикация научных исследований. По теме диссертационной работы опубликовано 8 научных работ, в том числе 3 в журналах,

рекомендованных ВАК Минобразования РФ («ВЕТКОРМ», «Ветеринарная патология»)

1.8. Основные положения, выносимые на защиту:

- результаты изучения основных биологических свойств штамма 10/2 B ovis,
- результаты сравнительного изучения основных антигенных, вирулентных, реактогенных, иммуногенных и других свойств экспериментальной вакцины из штамма 10/2 B ovis, вакцины из штамма 64/2 B ovis и вакцины из штамма Rev-1 B melitensis,
- результаты сравнительного изучения патоморфологических изменений в органах и тканях животных при иммунизации вакцинами из штаммов 10/2 B ovis, 64/2 B ovis и Rev-1 B melitensis;
- патоморфологические изменения в органах и тканях у баранов при естественном течении ИЭ,
- результаты анализа особенностей проявления эпизоотического процесса при инфекционном эпидидимите баранов в различных зонах Российской Федерации в течение 1976-2008 гг

1.9. Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 205 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, практических предложений, списка литературы и приложений. Список литературы включает 290 источников, в том числе 110 источников иностранных авторов Работа иллюстрирована 62 фотографиями, 8 таблицами и 23 рисунками

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена в секторе хронических инфекций и секторе патоморфологии ГНУ Всероссийского научно-исследовательского института экспериментальной ветеринарии имени Я.Р. Коваленко (ВИЭВ), на опытной базе Вышневолоцкого отдела ВИЭВ на острове «Лисий» Тверской области в соответствии с утвержденными планами научно-исследовательских работ по заданию 02.01.01 Российской научно-технической программы фундаментальных и прикладных исследований

2.1. Материалы и методы

Для анализа эпизоотической ситуации по инфекционному эпидидимиту баранов в Российской Федерации были собраны отчетные данные архива ФГУ «Центр ветеринарии» за 1976-2008 гг В качестве источников информации использовали:

- материалы ветеринарной отчетности Департамента ветеринарии Минсельхозпрода РФ – «Отчет о заразных болезнях животных» (форма 1-вет),
- материалы ветеринарной отчетности Департамента ветеринарии Минсельхозпрода РФ – «Отчет о противоэпизоотических мероприятиях» (форма 1-вет-А);
- материалы ветеринарной отчетности Центральной научно-методической ветеринарной лаборатории РФ – «Отчет о работе ветеринарных лабораторий» (форма 4-вет)

Сравнительное изучение антигенных, вирулентных, иммуногенных, реактогенных и других свойств экспериментальной вакцины из штамма 10/2 *B. ovis*, вакцины из штамма 64/2 *B. ovis* и Rev-1 *B. melitensis* проводили на морских свинках (весом 300-350 г) и баранах, в возрасте 18 мес, из хозяйства, благополучного по бруцеллезу и инфекционному эпидидимиту баранов

Безвредность и антигенную активность экспериментальной вакцины из штамма 10/2 *B. ovis* проверяли на морских свинках (весом 300-350 г), белых мышках (весом 18-20 г) и кроликах (весом 2-2,5 кг). Всего было использовано 47 белых мышей, 127 морских свинок, 14 кроликов и 76 баранов.

Изучение основных биологических свойств вакцин из штаммов штамма 10/2, 64/2 *B. ovis* и Rev-1 *B. melitensis* проводилось общепринятыми методами: по потребности культур в CO₂, выделение H₂S, бактериостатическое действие красок (тионин, основной фуксин), а также степень диссоциации культур в реакции термоаглютинации, реакции с трипафлавином 1 500 и методом окраски колоний бруцелл кристалльвиолетом 1:2000 по Уайт-Вильсону. В качестве контроля использовался стабильный штамм 16 М В *B. melitensis*

С целью серологической идентификации штаммов (проверка на наличие агглютинирующих антител) использовали двухсуточные агаровые культуры исследуемых штаммов и диагностические агглютинирующие S- и R-сыворотки.

Для изучения иммуногенных свойств экспериментальной микросерии вакцины из штамма 10/2 *B. ovis* в сравнении с аналогичными свойствами вакцин из штаммов 64/2 *B. ovis* и Rev-1 *B. melitensis* привитых данными препаратами животных заразили вирулентным штаммом бруцелл и через 45 дней провели убой, патологоанатомическое вскрытие и бактериологическое исследование биоматериала от них. Сыворотку крови животных исследовали в динамике в РБП с цветным бруцеллезным антигеном, в РА и РСК с единым бруцеллезным антигеном, в РДСК с антигеном из *B. ovis*, а также в РИД. Постановку и учет серологических реакций проводили в соответствии с требованиями «Наставления по диагностике бруцеллеза животных», утвержденного Департаментом ветеринарии МСХ РФ от 29.09 2003 г., «Наставления по диагностике инфекционной болезни овец, вызываемой Бруцелла овис (инфекционный эпидидимит баранов)» ГУВсГВИ МСХ и П СССР от 13.11.1991 г., а также «Методов лабораторных исследований по бруцеллезу» ФАО и ВОЗ 1968 г. Количественное определение содержания IгM, IгG и IгA в испытуемых сыворотках крови баранов проводили методом радиальной иммунодиффузии по Манчини.

Бактериологическое исследование биоматериала от морских свинок и баранов проводили путем высева материала из паренхиматозных органов, лимфатических узлов и семенников с придатками на МППГБ и МППГА с добавлением 10% сыворотки крови. Окончательный учет бактериологического исследования проводили на 30-й день

Для изучения поствакцинальных морфологических изменений, а так же динамики плазмощитарной реакции в тканях и органах у баранов в отдаленные сроки после иммунизации и при естественном течении ИЭБ, проводили отбор проб лимфатических узлов (подчелюстные, предлопаточные, парааортальные,

средостенные, печеночные, брыжеечные, поверхностные паховые, медиальные подвздошные), паренхиматозных органов (легкие, сердце, печень, почки, селезенка) и семенников с придатками Биоматериал для гистологического исследования фиксировали нейтральным 10%-ным раствором формалина и в жидкости Карнуа. Парафиновые и целлоидиновые срезы окрашивали гематоксилин-эозином, по Ван-Гизону, по Маллори в модификации Слинченко, по Тенцеру, по Браше и исследовали в световом микроскопе.

Для изучения патоморфологических изменений, наблюдаемых у баранов при естественном течении ИЭ, и сопоставления их с поствакцинальными изменениями, в хозяйствах Астраханской области, в результате осмотра 1231 барана, было отобрано 7 баранов с клиническими признаками эпидидимита. Диагноз подтверждали исследованием сыворотки крови от данных баранов в РДСК с антигеном из *V. ovis*.

Для обработки полученных цифровых данных и создания электронной базы данных по эпизоотическим показателям инфекционного эпидидимита баранов использовалась программа Microsoft Office Excel 2007. Для улучшения визуализации и проверки достоверности динамики показателей, на графики была добавлена полиномиальная линия тренда со степенью 6, а также величина достоверности аппроксимации (R^2).

2.2. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.2.1. Анализ эпизоотической ситуации по Инфекционному эпидидимиту баранов в Российской Федерации за 1976-2008 гг.

Графический и статистико-математический анализ динамики таких показателей как количество имеющихся на начало года неблагополучных пунктов; количество выявленных за год неблагополучных пунктов, количество оставшихся неблагополучных пунктов на конец года, количество оздоровленных за год неблагополучных пунктов; общее поголовье мелкого рогатого скота на территории РФ; численность выявленных за год больных животных (таб.1); численность животных, первично исследованных на ИЭБ, численность животных, повторно исследованных на ИЭБ, численность животных, положительно реагирующих при первичном исследовании; показатель заболеваемости на 100000 гол., коэффициент очаговости, как в целом по России, так и по отдельным ее субъектам, а также исследование корреляционной зависимости между ними позволили нам выявить следующие закономерности.

В период с 1976 г. по 2008 г. инфекционный эпидидимит отмечался в 50 субъектах Российской Федерации

В 1976 году инфекционный эпидидимит баранов был зарегистрирован в 30 субъектах РСФСР, формируя 2 неблагополучные зоны, 1-я, включающая Центрально-Европейскую и всю южную территорию РСФСР, и 2-я, включающая южную часть Сибири ИЭБ отмечался в зоне протяженностью от 27° до 122° восточной долготы и южнее 60° северной широты. В 2008 году инфекционный эпидидимит баранов был зарегистрирован в 10 субъектах РФ, формируя 4 неблагополучные зоны – Забайкальскую, Алтайскую, Европейскую и Прикавказскую.

Таблица 1. – Основные показатели эпизоотического процесса при ИЭБ

Годы	Заболело, гол	Неблагополучные пункты				Поголовье, млн гол
		Наличие на 1 января	Выявлено за год	Оздоровлено за год	Наличие на конец года	
1976	7970	201	160	182	179	66,109
1977	5359	179	76	98	157	65,361
1978	6135	157	83	87	153	66,701
1979	6939	153	46	64	135	67,461
1980	3621	135	52	69	118	66,869
1981	4610	118	33	40	111	64,973
1982	4220	111	35	48	98	64,534
1983	4192	98	49	51	96	64,883
1984	5613	96	67	65	98	66,263
1985	3883	98	65	72	91	64,5
1986	4785	91	53	47	97	63,4
1987	4207	97	52	62	87	64,1
1988	3845	87	49	49	87	62,9
1989	3204	87	45	63	69	62,7
1990	2971	69	36	53	52	61,3
1991	1733	52	22	20	54	58,2
1992	1539	54	31	20	65	55,3
1993	1657	65	37	37	65	51,4
1994	1203	65	14	23	56	43,7
1995	1319	56	30	42	44	34,5
1996	901	44	10	17	37	28
1997	707	37	15	23	29	23,8
1998	1071	29	16	23	22	18,8
1999	867	22	28	33	17	16
2000	668	17	12	13	16	14,7
2001	502	16	31	32	15	14,8
2002	766	15	35	26	24	15,3
2003	782	24	32	42	14	16
2004	445	14	42	47	9	16,9
2005	403	9	28	29	8	17
2006	365	8	25	25	8	17,3
2007	558	8	41	35	14	18,97
2008	240	14	23	16	21	20,249

Первое место по количеству заболевших животных в настоящее время занимает Европейская зона (42,1%), а по количеству выявляемых неблагополучных пунктов – Забайкальская зона (56,5%).

2.2.2. Изучение основных биологических свойств штамма 10/2 B.ovis

Изучение основных биологических свойств штамма 10/2 B ovnis проводили в сравнении со штаммами 64/2 B ovnis и Rev-1 B.melitensis

В результате видовой идентификации используемых штаммов было выявлено, что все они находятся в различной степени диссоциации (таб. 2)

Таблица 2 – Характеристика основных биологических свойств штаммов 10/2 и 64/2 *B. ovis* и вакцинного штамма Rev-1 *B. melitensis*

Показатели		10/2 <i>B. ovis</i>	64/2 <i>B. ovis</i>	Rev-1 <i>B. melitensis</i>
Потребность в CO ₂		+	+	-
Образование H ₂ S		-	-	+
Рост на среде	с тионином	+	+	-
	с основным фуксином	-	-	+
Термоагглютинация		+	+	-
Реакция с триафлавином		+	±	-
Окраска кристалливиолетом по Уайт-Вильсону	колонии R-формы	97%	48%	2%
	колонии S-формы	-	6%	95%
	колонии RS-SR-формы	3%	46%	3%
РА	с S-сывороткой	-	+	+
	с R-сывороткой	+	+	-

Штамм 10/2 *B. ovis* по основным биологическим свойствам является типичным для бруцелл вида *Ovis*, и отличается от штамма 64/2 *B. ovis* (48% R-форм бруцелл) более стабильным состоянием в отношении реверсии бруцелл (97% R-форм бруцелл)

2.2.3. Сравнительное изучение антигенных, реактогенных, иммуногенных и вирулентных свойств экспериментальной микросерии вакцины из штамма 10/2 *B. ovis* на морских свинках

Изучение иммуногенных свойств вакцины проводили на морских свинках весом 300-350 г, предварительно исследованных на бруцеллез в РБП с цветным бруцеллезным антигеном, в РА и РСК с единым бруцеллезным антигеном, и на инфекционный эпидидимит – в РДСК с антигеном из *B. ovis*. Все животные показали отрицательные результаты.

Для определения безвредности смесь опытной серии вакцины в равных количествах из 5 флаконов ввели 47 самцам белых мышей по 0,4 мл (8 млрд м.к.) подкожно в область спины, и 14 кроликам, массой 2-2,5 кг, по 0,5 мл (10 млрд м.к.) подкожно в области грудной клетки слева и справа (всего 1 мл – 20 млрд м.к.). После 10 дневного наблюдения провели убой и патологоанатомическое вскрытие.

В период наблюдения за иммунизированными белыми мышами и кроликами каких-либо отклонений в общем состоянии и поведении не наблюдали. При патологоанатомическом вскрытии видимых изменений в лимфатических узлах, паренхиматозных органах, а также на месте введения препарата не обнаружено.

С целью определения антигенной активности экспериментальную вакцину ввели подопытным 19 морским свинкам однократно подкожно в области паха в дозе 0,25 мл (5 млрд м.к.) Затем в течение 15 дней за свинками вели клиническое наблюдение, которое не выявило изменений в общем состоянии животных. Падежа в группе также не отмечали.

С целью исследования поствакцинального антителигенеза были сформированы 4 группы по 15 морских свинок в каждой. Для сравнения напряженности создаваемого иммунитета взяли также инактивированную адьювант-вакцину из штамма 64/2 *B. ovis* и живую вакцину из штамма Rev-1 *B. melitensis*. Все препараты вводили подкожно в области паха в объеме 0,25 мл. В качестве адьюванта в экспериментальной микросерии вакцины из штамма 10/2 *B. ovis* и вакцине из штамма 64/2 *B. ovis* использовали гель гидроокиси алюминия.

Сыворотки крови от морских свинок всех групп исследовали в динамике на 15-й, 30-й, 60-й и 90-й дни после иммунизации в РБП, РА, РСК с бруцеллезными антигенами и в РДСК с антигеном из *B. ovis*. РА ставили в разведении 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320 и 1:640, а РДСК и РСК – 1:5, 1:10, 1:20, 1:40.

В результате исследований выявили, что различная степень диссоциации испытуемых штаммов оказывала значительное влияние на качественный и количественный состав агглютинирующих и комплементсвязывающих антител в сыворотке крови морских свинок.

Вакцина из штамма 10/2 *B. ovis* не вызывала синтеза антител, связывающих бруцеллезные антигены в РБП, РА и РСК (рис 1 а, б), но, в то же время, стимулировала образование антител, связывающихся в РДСК с антигеном из *B. ovis* (рис 1 в).

При иммунизации вакциной из штамма Rev-1 *B. melitensis* у морских свинок наблюдали активный синтез противобруцеллезных антител (рис 1 а, б) и отсутствие антител, выявляемых в РДСК с антигеном из *B. ovis* (рис 1 в).

Вакцина из штамма 64/2 *B. ovis* обладает свойством образовывать как антитела, связывающиеся бруцеллезными антигенами в РБП, РА и РСК (рис 1 а, б), так и связывающиеся антигеном из *B. ovis* в РДСК (рис 1 в).

В РДСК с антигеном из *B. ovis* у морских свинок, иммунизированных вакцинами из штаммов 10/2 и 64/2 *B. ovis*, наблюдали схожие тенденции изменения титров антител. Пик образования антител приходился на первый месяц после иммунизации. При этом у морских свинок, иммунизированных вакциной из штамма 10/2 *B. ovis*, наблюдали более высокие титры антител, выявляемых в РДСК, чем в группе морских свинок, привитых вакциной из штамма 64/2 *B. ovis* (рис 1 а). На 30-й день в группе свинок, иммунизированных вакциной из штамма 10/2 *B. ovis*, 33,3% животных реагировало в титре 1:5, 46,7% – в титре 1:10 и 20% – в титре 1:20. В группе свинок, иммунизированных вакциной из штамма *B. ovis* 64/2, 53,3% животных реагировало в титре 1:5 и 40% – в титре 1:10.

Титры комплементсвязывающих антител в сыворотке крови морских свинок, иммунизированных вакциной из штамма 10/2 *B. ovis*, при исследовании на 30-й и 90-й дни после вакцинации были выше аналогичных показателей у животных, привитых вакциной из штамма 64/2 *B. ovis*, соответственно на 35,5 и 11,3%.

В то же время вакцина из штамма 64/2 *B. ovis* уступала живой вакцине из штамма Rev-1 *B. melitensis* в выраженности антителигенеза, проявляющейся в

более низких титрах РА и РСК с единым бруцеллезным антигеном на протяжении всего опыта В группе свинок, иммунизированных вакциной из штамма Rev-1 *B melitensis*, на 15-й день после иммунизации титр антител в РА был выше в 2,5 раза, на 30-й день – на 32%, а на 90-й день эта разница составляла 59% В РСК наблюдали аналогичную тенденцию – 26%, 20% и 22% соответственно.

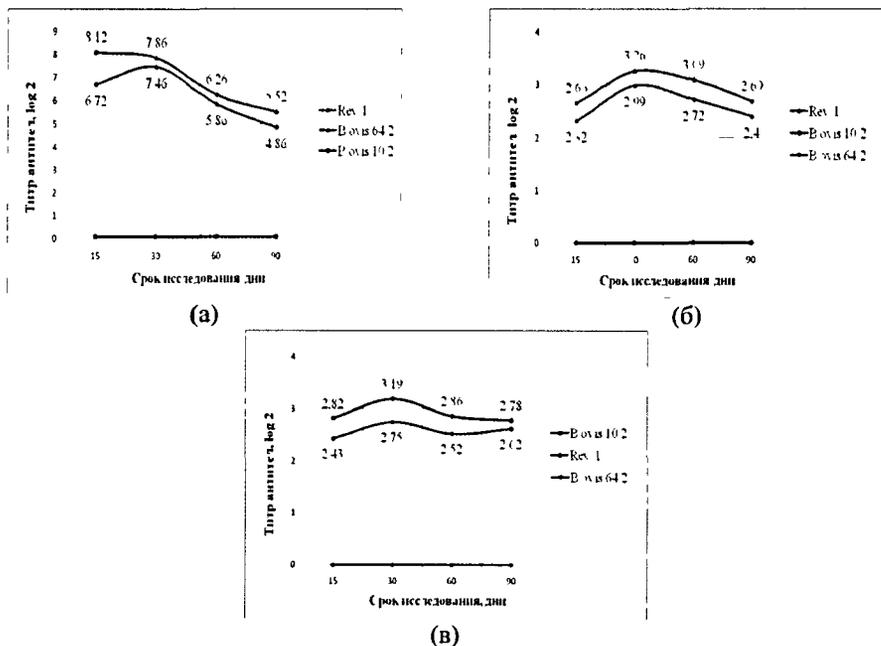


Рис. 1 (а) – Динамика агглютинирующих антител в РА с единым бруцеллезным антигеном, (б) – динамика комплементсвязывающих антител в РСК с единым бруцеллезным антигеном; (в) – динамика комплементсвязывающих антител в РДСК с антигеном из *B. ovis*

Для проверки напряженности иммунитета, создаваемого испытуемыми вакцинами, использовали вирулентный штамм 8406 *B. ovis*. Предварительно штамм титровали на морских свинках для определения минимальной заражающей дозы (ИД₁₀₀).

Данный опыт провели на 6 аналогичных группах морских свинок, предварительно проверенных в РБП, РА, РСК с бруцеллезными антигенами на бруцеллез и в РДСК с антигеном из *B. ovis* на инфекционный эпидидимит. Каждую группу составляли 8 животных весом 300-350 г.

Полученные нами результаты показали, что 1 млн мк штамма 8406 *B. ovis* является минимальной заражающей дозой для морских свинок (ИД₁₀₀).

Проверку напряженности иммунитета, сформированного у морских свинок через 90 дней после иммунизации вакцинами из штаммов 10/2 и 64/2

В оvis и Rev-1 В melitensis, провели путем подкожного заражения вирулентным штаммом 8406 В оvis в дозе 5 ИД₁₀₀ (5 млн м к)

Через 45 дней после заражения провели убой, патологоанатомическое вскрытие и бактериологическое исследование биоматериала от каждой морской свинки

При патологоанатомическом вскрытии изменения были обнаружены только у заразившихся морских свинок У двух из пяти свинок из группы, иммунизированных вакциной из штамма 64/2 В оvis, обнаружены изменения, характерные для генерализованной формы ИЭ

Среди морских свинок, привитых вакцинами из штаммов 10/2 и 64/2 В оvis, иммунных животных было 80% и 66,7% соответственно Индекс инфицированности морских свинок, иммунизированных вакциной из штамма 10/2 В оvis, составил 3,3%, против 8,7% у аналогичной группы свинок, иммунизированных вакциной из штамма 64/2 В оvis.

Наиболее иммуногенной для морских свинок, при испытании иммунитета через 90 дней, оказалась вакцина из штамма Rev-1 В melitensis – иммунных 93,3%

2.2.4. Сравнительное изучение антигенных, реактогенных, иммуногенных и вирулентных свойств экспериментальной микросерии вакцины из штамма 10/2 В.оvis на баранах

Для изучения основных свойств экспериментальной инактивированной адьювант-вакцины из штамма 10/2 В оvis на баранах в сравнении с вакцинами из штаммов 64/2 В оvis и Rev-1 В melitensis сформировали 4 группы (3 опытные и 1 контрольную) полутороговых баранов по 14 голов в каждой Предварительно всех животных исследовали на бруцеллез в РБП, РА и РСК с бруцеллезными антигенами, на ИЭБ в РДСК с антигеном из В оvis с отрицательным результатом Вакцины в дозе 1 мл вводили подкожно в области правого локтевого сустава с медиальной стороны

Сыворотку крови баранов, исследовали в РБП, РА, РСК с цветным и единым бруцеллезным антигенами, в РДСК с антигеном В оvis, а также в РИД на 7-й, 15-й, 24-й, 31-й, 46-й, 61-й, 90-й и 127-й дни после иммунизации РА ставили в разведениях 1 25, 1:50, 1 100, 1.200, 1 400, 1 800, 1 1600 и 1 3200, РСК и РДСК – в разведениях 1 5, 1 10, 1 20 и 1 40

В РБП положительные реакции получили уже на 7-й день после вакцинации у 100% баранов, иммунизированных вакцинами из штаммов Rev-1 В melitensis и 64/2 В оvis Некоторое ослабление реакции отметили с 61-го дня в обеих группах, причем более выражено в группе баранов, привитых вакциной из штамма 64/2 В оvis Тем не менее, положительные реакции отмечали в обеих группах и на 127-й день после иммунизации

При исследовании в РБП сыворотки крови баранов, иммунизированных вакциной из штамма 10/2 В оvis, получали отрицательные результаты на протяжении всего опыта, также как и при исследовании в РА и РСК.

Специфические агглютинины у баранов, иммунизированных вакциной из штамма Rev-1 В melitensis, выявлялись в РА на 7-й день после иммунизации в

титрах от 100 МЕ до 1600 МЕ (в среднем 589 МЕ), и достигли своего максимального значения на 24-й день (623 МЕ) (рис 2) В дальнейшем наблюдали постепенное снижение титра антител На 61-й день после вакцинации он составлял в среднем 44 МЕ На 90-й день антитела в РА не обнаруживали

Аналогичные результаты получили при исследовании сыворотки крови баранов, иммунизированных вакциной из штамма 64/2 *V. ovis* (рис 2) Агглютинины, появившиеся в крови на 7-й день после иммунизации, в титрах от 50 МЕ до 200 МЕ (в среднем 117 МЕ), достигли максимального значения также на 24-й день после иммунизации (в среднем 233 МЕ) Однако в отличие от предыдущей группы, в этой, агглютинирующие антитела хотя и в низких титрах, но все-таки выявляли до окончания опыта На 127-й день их уровень составлял в среднем 32 МЕ Таким образом, уровень образуемых агглютининов в ответ на иммунизацию баранов вакциной из штамма 64/2 *V. ovis* примерно в 3 раза ниже, чем у баранов, иммунизированных вакциной из штамма Rev-1 *V. melitensis*

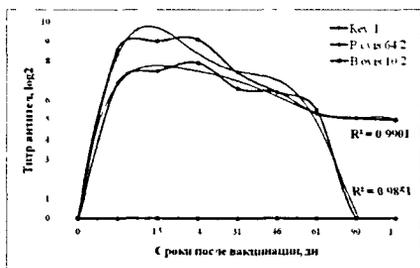


Рис 2 – Динамика агглютинирующих антител в сыворотке крови баранов в РА с единым бруцеллезным антигеном

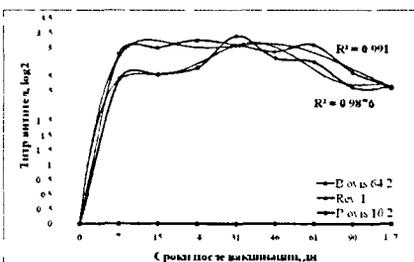


Рис 3. – Динамика комплементсвязывающих антител в сыворотке крови баранов в РСК с единым бруцеллезным антигеном

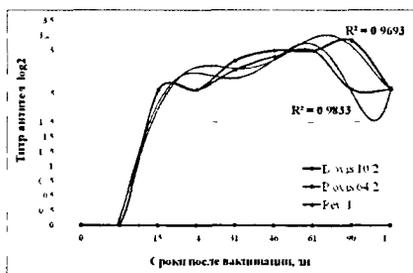


Рис 4 – Динамика комплементсвязывающих антител в сыворотке крови баранов в РДСК с антигеном из *V. ovis*

Определение наличия комплементсвязывающих антител, проводимое с помощью РСК с единым бруцеллезным антигеном, уже на 7-й день после вакцинации показало их наличие в разведении 1.10 в сыворотке крови 44% баранов, иммунизированных вакциной из штамма Rev-1 *B melitensis*, и 11% баранов, иммунизированных вакциной из штамма 64/2 *B ovis* (рис 3).

Максимальное количество комплементсвязывающих антител отмечено на 31-й день после иммунизации. В это время они были зарегистрированы в разведении 1.10 у 56% баранов, иммунизированных вакциной из штамма *B melitensis* Rev-1, и 78% баранов, иммунизированных вакциной из штамма *B ovis* 64/2.

Отмеченное в последующие сроки исследования снижение титра комплементсвязывающих антител привело к тому, что на 127-й день их обнаруживали лишь в разведении 1.5 у 33% исследованных баранов в группах, иммунизированных вакцинами из штаммов Rev-1 *B melitensis* и 64/2 *B ovis*.

В группе баранов, привитых вакциной из штамма 10/2 *B ovis*, синтеза комплементсвязывающих антител, выявляемых в РСК с единым бруцеллезным антигеном, в течение всего периода исследования не наблюдали (рис 3).

Комплементсвязывающие антитела выявили в РДСК с антигеном из *B. ovis* через 14 дней после вакцинации в разведении 1.5 в сыворотке крови 44% баранов, иммунизированных вакциной из штамма 64/2 *B ovis*, и 56% баранов, иммунизированных вакциной из штамма 10/2 *B. ovis* (рис 4).

Максимальной концентрации комплементсвязывающие антитела достигли на 61-й день после иммунизации: 78% баранов, иммунизированных вакциной из штамма 10/2 *B ovis*, и 44% баранов, иммунизированных вакциной из штамма 64/2 *B ovis*, реагировали в РДСК в разведении 1.10.

В последующие сроки отметили уменьшение титра комплементсвязывающих антител. При этом в группе баранов, иммунизированных вакциной из штамма 64/2 *B ovis*, наблюдали более резкое снижение антитела на 90-й и 127-й дни определяли только в разведении 1.5. В то же время в группе баранов, иммунизированных вакциной из штамма 10/2 *B ovis*, комплементсвязывающие антитела определяли в разведении 1.10 у 56% животных на 90-й, а на 127-й после вакцинации только в разведении 1.5.

Рост титра иммуноглобулинов М-класса, отмеченный на 7-й день после иммунизации, составил 37,5% у баранов, иммунизированных вакциной из штамма Rev-1 *B melitensis*, 30,1% – у баранов, иммунизированных вакциной из штамма 10/2 *B ovis* и 13,4% – у баранов, иммунизированных вакциной из штамма 64/2 *B ovis* (рис 5).

Максимального уровня титры IgM достигли у баранов, иммунизированных вакциной из штамма Rev-1 *B melitensis*, на 24-й день после вакцинации (4,19 мг/мл), а у баранов иммунизированных вакцинами из штаммов 10/2 и 64/2 *B ovis*, на 31-й день после иммунизации и составили 3,97 и 3,55 мг/мл соответственно.

Наблюдавшееся в последующие сроки исследования снижение титров IgM привело к тому, что на 127-й день после иммунизации уровень данных антител оказался ниже первоначального

У вакцинированных баранов, не зависимо от иммунизирующего штамма наблюдали одинаковую тенденцию роста и снижения уровня антител. Однако при этом количественные показатели IgM у животных, иммунизированных вакциной из штамма Rev-1, были выше на протяжении всего опыта, чем у животных, иммунизированных вакцинами из штаммов 10/2 и 64/2 *V. ovis*.

На 7-й день после иммунизации также отмечено некоторое повышение уровня IgG на 3,8% у баранов, иммунизированных вакциной из штамма Rev-1 *V. melitensis*, на 5,3% у баранов, иммунизированных вакциной из штамма 10/2 *V. ovis* и на 1,2% у баранов, иммунизированных вакциной из штамма 64/2 *V. ovis* (рис 6).

Максимальных значений уровень IgG достиг у баранов всех групп на 31 день после вакцинации и составил 22,2 мг/мл у баранов, иммунизированных вакциной из штамма Rev-1 *V. melitensis*, 21,89 мг/мл у баранов, иммунизированных вакциной из штамма 10/2 *V. ovis* и 21,33 мг/мл у баранов, иммунизированных вакциной из штамма 64/2 *V. ovis* (рис 6), что в свою очередь выше первоначального уровня IgG в этих группах на 8,3%, 14,7% и 5,8% соответственно.

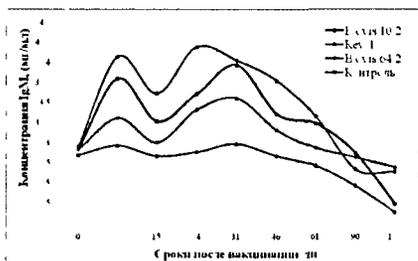


Рис 5 – Динамика IgM в сыворотке крови баранов

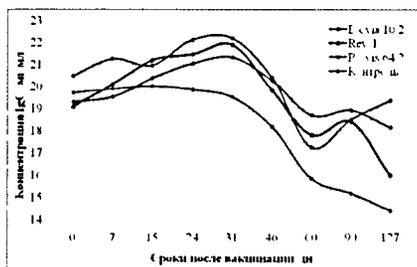


Рис 6 – Динамика IgG в сыворотке крови баранов

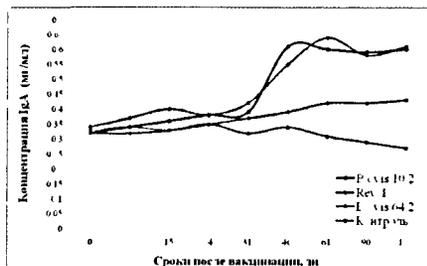


Рис 7 – Динамика IgA в сыворотке крови баранов

В последующие сроки исследования отметили снижение титров IgM. В группах, иммунизированных вакцинами из штаммов 10/2 и 64/2 *V.ovis*, на 127-й день после иммунизации уровень антител оказался ниже первоначального. Однако в группе баранов, иммунизированных вакциной из штамма Rev-1 *V.melitensis*, в отличие от двух других групп, после периода снижения концентрации IgM со второго месяца после иммунизации отмечали второй подъем титров IgM, связанный с особенностями расселения вакцинного штамма в организме подопытных баранов.

На протяжении первого месяца после иммунизации уровень IgA у баранов всех групп колебался в небольшом диапазоне значений. Однако на 46-й день наблюдали резкое увеличение концентрации IgA в группах, иммунизированных вакцинами из штаммов Rev-1 *V.melitensis* и 10/2 *V.ovis*, на 31% и 56,4% соответственно (рис.7). Причем в группе баранов, иммунизированных вакциной из штамма Rev-1 *V.melitensis*, на 60-й день уровень IgA вырос еще на 16,4%, а к концу исследования составлял 79,4 % от первоначального, в то время как в группе баранов, иммунизированных вакциной из штамма 10/2 *V.ovis*, он оставался без значительных изменений до окончания исследования и на 127-й день составлял 87,5% от первоначального. Таким образом, пик синтеза IgA приходился на более ранний период и носил более выраженный характер у баранов при иммунизации вакциной из штамма 10/2 *V.ovis*.

Динамика уровня IgA в сыворотке крови баранов, иммунизированных вакциной из штамма 64/2 *V.ovis*, носила линейный характер. Рост уровня IgA в этой группе отмечали на протяжении всего периода исследования и на 127-й день после иммунизации составлял 0,43 мг/мл, что на 34,4% выше первоначального. Таким образом, у баранов данной группы наблюдали слабовыраженное усиление синтеза IgA, связанное с иммунизацией.

В результате исследований установили, что динамика количественных изменений уровня IgG и IgM была практически одинакова у всех иммунизированных баранов, значительные отличия наблюдали лишь в динамике IgA.

Динамика количественных показателей M-, G- и A-классов иммуноглобулинов коррелирует с титром агглютинирующих антител, выявляемых в РА с единым бруцеллезным антигеном ($r = 0,91$, $P < 0,05$).

Проверку напряженности иммунитета у баранов провели через 180 дней после иммунизации путем подкожного введения в области левого локтевого сустава с медиальной стороны вирулентного штамма 8406 *V.ovis*, в общепринятой дозе 10 ИД₁₀₀. Предварительно культуру 8406 *V.ovis* титровали на баранах для определения минимальной заражающей дозы (ИД₁₀₀). С этой целью, сформировали 4 группы, по 5 полугодовалых баранов в каждой. Предварительно всех опытных баранов исследовали на бруцеллез (РБП, РА, РСК) и инфекционный эпидидимит (РДСК). Все животные показали отрицательные результаты.

В результате титрации заражающей дозы штамма 8406 *V. ovis* установили, что минимальная инфицирующая доза (ИД₁₀₀) для баранов составляет 500 млн мк Серологическое исследование баранов на бруцеллез (РБП, РА, РСК) и инфекционный эпидидимит (РДСК) провели через 15, 30 и 45 дней после заражения в том же разведении

Убой баранов (по 5 голов из каждой группы), патологоанатомическое вскрытие и отбор биоматериала для бактериологического и гистологического исследования провели через 45 дней после заражения.

Бактериологическое исследование биоматериала от каждого барана провели путем посева из подчелюстных, заглоточных, предлопаточных, порталного, гипогастральных, парааортальных, средостенного, глубоких паховых и надколенных лимфатических узлов, селезенки, печени, почек, сердца, семенников и их придатков на мясо-пептонно-печеночно-глюкозо-глицериновый бульон (МППГТБ) и мясо-пептонно-печеночно-глюкозо-глицериновый агар (МППГГА) с добавлением 10% нормальной сыворотки крови. Окончательный учет роста микробной массы провели через 30 дней инкубации в термостате при температуре 38°C.

По результатам серологического, патологоанатомического и бактериологического исследования баранов установлено, что в контрольной группе заразились все 5 баранов, причем 4 из них в генерализованной форме, что дало право судить о высокой вирулентности заражающего штамма 8406 *V. ovis*.

При серологическом исследовании сывороток крови опытных баранов, после заражения вирулентным штаммом 8406 *V. ovis* в дозе 5 млрд мк, на 30-й день у 1 барана из группы животных, иммунизированных вакциной из штамма 64/2 *V. ovis*, наблюдали прорыв иммунитета и появление в сыворотке крови комплементсвязывающих антител в титре 1:200 в РДСК с антигеном из *V. ovis*

Бараны, иммунизированные вакциной из штамма Rev-1 *V. melitensis*, даже через 205 дней после вакцинации продолжали реагировать в РБП, РА и РСК с бруцеллезными антигенами Антитела в РДСК с антигеном из *V. ovis* определялись в данной группе лишь на 15 день после заражения в титре 1/5, а в последующие сроки исследования были получены отрицательные результаты

У баранов, иммунизированных вакцинами из штаммов 10/2 и 64/2 *V. ovis*, на всех этапах исследования сыворотки крови после заражения, не обнаружено бруцеллезных антител, выявляемых в РБП, РА и РСК с бруцеллезными антигенами. В РДСК с антигеном из *V. ovis* комплементсвязывающие антитела в титрах 1:5 и 1:10 выявлялись на 15-й и на 30-й дни после заражения. На 45-й день после заражения в сыворотке 1-го барана, иммунизированного вакциной из штамма 64/2 *V. ovis*, обнаружили комплементсвязывающие антитела в РДСК с антигеном из *V. ovis* в титрах 1/40 С сывороткой других баранов данной группы, а также других опытных групп РДСК с антигеном из *V. ovis* была отрицательной.

При проведении патологоанатомического вскрытия у заразившихся баранов контрольной группы и барана из группы, иммунизированных вакциной

из штамма 64/2 *B. ovis*, обнаружили увеличение большинства лимфатических узлов.

Вакцины из штаммов Rev-1 *B. melitensis* и 10/2 *B. ovis*, обеспечили 100% иммунитет у баранов, зараженных через 6 месяцев после однократной иммунизации. Вакцина из штамма 64/2 *B. ovis* показала 80% эффективность с индексом инфицированности 2,2 %

2.2.5. Сравнительное изучение иммуногенеза на баранах при использовании вакцин из штаммов 10/2 и 64/2 *B. ovis*, Rev-1 *B. melitensis*

С целью изучения поствакцинального иммуногенеза в тканях и органах баранов при использовании вакцин из штаммов 10/2 и 64/2 *B. ovis* и штамма Rev-1 *B. melitensis* проведен убой баранов, патологоанатомическое вскрытие и отбор биоматериала для гистологического исследования на 61-й, 90-й и 127-й дни после иммунизации. Для этого произвольно выбирали по 3 барана из каждой группы.

Макроскопически видимой патологии в органах и тканях брюшной, тазовой и грудной полостей, а также в половых органах при вскрытии не обнаружили.

Заметные изменения, заключающиеся лишь в небольшом увеличении предлопаточных лимфатических узлов, регионарных месту введения вакцинных препаратов, обнаружили у всех баранов на второй месяц после иммунизации (61 день) Причем оно было более выражено у баранов, иммунизированных вакциной из штамма Rev-1 *B. melitensis*

При гистологическом исследовании отмечали гиперпластические процессы в паракортикальной зоне предлопаточных лимфоузлов и, в меньшей степени, в других лимфатических узлах. В то же время, в герминативных центрах и субкапсулярных зонах вторичных фолликулов имела место В-клеточная лимфоцитарная пролиферация в виде утолщения зоны мантии Эти изменения характерны для всех иммунизированных баранов, но более интенсивно выражены они были у баранов, привитых вакциной из штамма Rev-1 *B. melitensis*

В селезенке на второй месяц после иммунизации отмечали плазмоцитарную реакцию в красной пульпе и лимфоцитарную пролиферацию лимфофолликулов белой пульпы, одинаково выраженную у животных всех групп

Явления лимфоидно-клеточной пролиферации различной степени интенсивности отмечали и в других органах – печени, почках, сердце

У животных, убитых через 90 дней после иммунизации, гиперпластические процессы были выражены значительно слабее и регистрировались только в правом предлопаточном лимфатическом узле, регионарном месту введения вакцины Причем более выраженные изменения отмечались у баранов, иммунизированных вакциной из штамма Rev-1 *B. melitensis*. В других лимфоузлах структура органа не отличалась от таковой у контрольных не вакцинированных животных.

На 127-й день после иммунизации видимых морфологических изменений со стороны исследованных органов не обнаружено.

На 61 и 90-й дни после иммунизации в лимфатических узлах и селезенке отмечали выраженную в различной степени плазмоцитарную реакцию. У баранов, иммунизированных вакциной из штамма Rev-1 B melitensis, она была более выражена, чем у баранов, иммунизированных вакцинами из штаммов 10/2 и 64/2 B ovis, у которых она была практически одинакова. В лимфатических узлах отмечали более быстрое угасание плазмоцитарной реакции, чем в селезенке, где она отмечалась и на 127-й день после иммунизации.

Интенсивность иммуноморфологических реакций была несколько выше и отмечалась более длительное время при использовании вакцины из штамма 10/2 B. ovis, чем при использовании вакцины из штамма 64/2 B. ovis.

При сопоставлении данных гистологического и серологического исследований выявилась положительная корреляция динамики наблюдаемых явлений лимфоидно-клеточной и плазмоцитарной пролиферации в лимфатических узлах, селезенке и других паренхиматозных органах с динамикой антител и количеством иммуноглобулинов в сыворотке крови.

2.2.6. Изучение патоморфологических изменений у баранов при естественном течении ИЭ.

Ввиду тропизма возбудителя и тесной морфофункциональной взаимосвязи органов половой и мочевыделительной систем им при осмотре уделяли особое внимание.

При осмотре наружных половых органов баранов наблюдали поражение семенников и их придатков в виде деструктивно-пролиферативных процессов в соединительнотканых структурах с образованием асептических абсцессоподобных образований в области головки и тела придатков семенника.

При микроскопическом исследовании в зоне некротического распада в придатках семенников отмечали выраженную макрофагальную реакцию с образованием большого количества гигантских клеток типа Ланганса.

В стенках кровеносных сосудов придатков семенников наблюдали деструктивные изменения мышечного слоя в виде фибриноидного пропитывания и коллагенизации.

Изменения различной степени тяжести обнаружили в почках. Макроскопически они проявлялись в виде отека окопочечной клетчатки, увеличения почек с отеком капсулы и паренхимы, сращений наружного соединительнотканного и внутреннего мышечного слоев фиброзной капсулы с образованием значительных по площади спаек, выраженного полнокровия сосудов, диапедезных кровоизлияний в корковом и мозговом слоях органа. Отмечали стертость рисунка и истончение коркового и мозгового слоев, утолщение слизистой оболочки почечной лоханки, а также значительное расширение полости больших и малых почечных чашечек и самой почечной лоханки.

После отделения жировой капсулы отмечали утолщение мочеточника, в его адвентиции наблюдали разрастание соединительной ткани и фибриноидное пропитывание стенок сосудов.

В корковом слое вокруг извитых канальцев и клубочков часто обнаруживали множественные обширные очаговые лимфоидно-моноцитарные пролифераты в виде муфтообразных утолщений. Большинство проксимальных канальцев мозгового вещества расширены, наблюдается нарушение базальной исчерченности. В просветах канальцев содержались гиалиновые цилиндры. Интерстициальная ткань отчетливо выявлялась вокруг клубочков и по ходу канальцев, где отмечалась ее инфильтрация лимфоидными клетками.

Обнаруживали большое количество гипертрофированных клубочков, имевших интенсивно окрашенные ядра подоцитов, полностью заполнявшие боуменово пространство, в котором обнаруживали скопление гомогенной эозинофильной пенистой белковой массы и эритроцитов. Сосудистый клубочек почечного тельца уменьшен в размерах и имеет лопастной вид, подоциты едва просматривались. Часть почечных канальцев заполнена аналогичной белковой массой.

Отмечались огрубение остова и гиперплазия мезангиальных клеток сосудистого клубочка. Имелись клубочки, потерявшие клеточную структуру и заполненные фибриноидными бесклеточными структурами. Капсула подобных клубочков утолщена. Лежащие вблизи кровеносные сосуды имели утолщенную и разволокненную стенку.

В эпителии почечных лоханок наблюдали клеточную инфильтрацию, местами с формированием крупных лимфофолликулярных гранул и обширных пролифератов.

При исследовании лимфатической системы часто изменения обнаруживали в поверхностных и глубоких паховых, тазовых, почечных и поясничных лимфатических узлах в виде их увеличения, гиперемии, отека и кровоизлияний на поверхности и на разрезе. При гистологическом исследовании отмечали гиперпластические процессы в лимфоидной ткани в мозговом и корковом слоях. Наблюдалось изменение соотношения корковой, медуллярной и паракортикальной зон в пользу увеличения последней, за счет уменьшения объема фолликулов. Часто паракортикальный слой расширен вплоть до капсулы лимфоузла, причем фолликулы сильно раздвинуты широкими тяжами клеток.

Макроскопических изменений в селезенке при вскрытии не обнаружили. При гистологическом исследовании часто наблюдали клеточно-пролиферативные реакции ретикулоэндотелия в синусах и мягкотных шнурах, гиперплазию фолликулов и эозинофильную инфильтрацию красной пульпы.

При визуальном осмотре изменений в печени не обнаружили. Гистологически часто отмечали дистрофию печеночной ткани, очаговую лимфоидную пролиферацию триад Глиссона, а также диффузную гиперплазию и гипертрофию клеток Купфера.

При гистологическом исследовании в интерстициальной ткани миокарда выявляли небольшие пролифераты лимфоидных клеток вокруг сосудов, а также пролиферацию эндотелия сосудов

При гистологическом исследовании в легких обнаружили истончение альвеолярных перегородок в связи с дистрофическими изменениями.

Таким образом, при гистологическом исследовании биоматериала обнаруживали полиморфизм дистрофических и пролиферативных процессов в различных органах

3. ВЫВОДЫ

1. Экспериментальная инактивированная адьювант-вакцина из штамма 10/2 *B. ovis*, предохраняла от заражения вирулентным штаммом 8406 *B. ovis* 80% морских свинок через 3 месяца, и 100% баранов – через 6 месяцев после иммунизации. По количественным показателям поствакцинального иммуногенеза экспериментальная инактивированная адьювант-вакцина из штамма 10/2 *B. ovis* превосходит вакцину из штамма 64/2 *B. ovis* и незначительно уступает вакцине из штамма Rev-1 *B. melitensis*.

2 При сопоставлении данных гистологического, серологического и иммунологического исследований баранов, привитых экспериментальной вакциной из штамма 10/2 *B. ovis*, выявлена положительная корреляция динамики наблюдаемых явлений лимфоидно-клеточной и плазмоцитарной пролиферации в лимфатических узлах, селезенке и других паренхиматозных органах с динамикой уровня антител и количеством иммуноглобулинов в сыворотке крови

3 Изменения, обнаруживаемые при гистологическом исследовании биоматериала от привитых баранов, сводятся к пролиферации антиген-специфических лимфоидных клеток в лимфатических узлах, селезенке, печени и почках. Плазмоцитарная реакция в лимфоидных органах у баранов, иммунизированных вакциной из штамма 10/2 *B. ovis*, более выражена, чем у баранов, привитых вакциной из штамма 64/2 *B. ovis*, что свидетельствует о высокой иммуногенности вакцины из штамма 10/2 *B. ovis*. Глубоких структурных изменений, наблюдаемых в тканях и органах при естественном течении инфекционного эпидидимита, у вакцинированных баранов не обнаружено, что свидетельствует о доброкачественно протекающем поствакцинальном иммуногенезе при применении данного препарата

4. При ретроспективном анализе эпизоотической ситуации по инфекционному эпидидимиту баранов в России за 1976-2008 гг. отмечено сокращение числа неблагополучных пунктов и уровня заболеваемости в 10 раз, установлена закономерность географического распространения и приуроченность инфекционного эпидидимита баранов к определенной местности, территориально выделено 4 стационарно-неблагополучные зоны с разной степенью неблагополучия – Алтайская, Европейская, Забайкальская и Прикавказская

5. В патоморфологической картине ИЭБ преобладают некробиотические изменения в придатках семенников. В остальных органах мочеполовой системы и лимфатических узлах наблюдаются менее выраженные патоморфологические изменения, вызванные реакциями гиперчувствительности III и IV типов. В почках отмечаются очаговые и диффузные изменения, характеризующиеся полиморфизмом.

4. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Новая адъювант-вакцина из штамма 10/2 *B.ovis* против инфекционного эпидидимита баранов.

Проект лабораторного регламента по производству контролю и применению адъювант-вакцины из штамма 10/2 *Brucella ovis* против инфекционного эпидидимита баранов, утвержденный директором ВНИИЭВ им Я.Р.Коваленко.

Полученные результаты исследований могут быть использованы при разработке нового наставления по диагностике инфекционного эпидидимита баранов и новой инструкции о мероприятиях по профилактике и ликвидации инфекционного эпидидимита баранов.

Рекомендуется использовать данные, полученные при анализе эпизоотологических сведений, для корректировки проведения противоэпизоотических мероприятий в регионах Российской Федерации, неблагополучных по инфекционному эпидидимиту баранов.

5. СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1 Нестреляев, С С. Значение гуморального и клеточного иммунитета при бруцеллезе / Федоров А И, Искандаров М И, Игнатов П Е., Альбертян М П., Нестреляев С.С, Некрасов А В, Хаитов Р М., Петров Р В // Физиология и патология иммунной системы – 2006 – Т 10 – №8 – С 3-7.

2. Нестреляев, С С Сравнительная оценка антигенной активности вакцин против инфекционного эпидидимита баранов / Нестреляев С С. // ВЕТКОРМ. – 2008 – №3. – С 23.

3 Нестреляев, С С. Количественная характеристика иммуноглобулинов и динамика титра антител в сыворотке крови баранов, вакцинированных против инфекционного эпидидимита / Федоров Ю Н, Альбертян М П, Нестреляев С С. // Ветеринарная патология. – 2008. – №3(26) – С. 77-81.

4 Нестреляев, С С Патоморфологические изменения у баранов, клинически больных инфекционным эпидидимитом / Альбертян М П, Нестреляев С.С // Ветеринарная патология. – 2008. – №4(27) – С.8-11.

5. Нестреляев, С С Эпизоотологическая и эпидемиологическая роль бруцеллеза мелкого рогатого скота и других видов животных в РФ / Искандаров М И., Федоров А И, Нестреляев С С., Альбертян М П. // Труды ВИЭВ. – Москва, 2009. – Т. 75. – С. 312-317

6. Нестреляев, С С. Протективный антиген бруцелл как фактор патогенности / Федоров А.И, Искандаров М И, Альбертян М П, Нестреляев С С // Труды ВИЭВ – Москва, 2009 – Т 75 – С. 644-647.

7 Нестреляев, С С. Анализ Эпизоотической ситуации по инфекционному эпидидимиту баранов в Российской Федерации за 1976-2007 гг / Нестреляев С.С, Искандаров М И., Альбертян М.П, Федоров А.И. // Труды ВИЭВ. – Москва, 2009. – Т. 75. – С. 490-494.

8. Нестреляев, С С. Изучение иммунобиологических свойств культуры штамма *V. ovis* 10/2 / Нестреляев С С., Искандаров М И, Альбертян М П // Труды ВИЭВ. – Москва, 2009 – Т 75. – С 483-489.



Отпечатано в типографии ООО «Франтера»
ОГР № 1067746281514 от 15 02 2006г
Москва, Талалихина, 33

Подписано к печати 07 09 2009г
Формат 60x84/16 Бумага «Офсетная №1» 80г/м²
Печать трафаретная Усл печ л 1,50 Тираж 100 Заказ 288

WWW.FRANTERA.RU

23