

На правах рукописи

**ПАВЛОВА АННА ВЛАДИМИРОВНА**

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ МОДИФИЦИРОВАННОЙ ИНАКТИВИРОВАННОЙ  
АДЬЮВАНТ-ВАКЦИНЫ «ЭВАК» ПРИ ИНФЕКЦИОННОМ  
ЭПИДИДИМИТЕ БАРАНОВ**

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

**Авторферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук**



Москва – 2006

Работа выполнена в лаборатории микобактериозов ГНУ Всероссийский научно- исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени Я.Р. Коваленко Российской академии сельскохозяйственных наук

Научный руководитель – доктор ветеринарных наук  
Альбертян Мкртич Погосович

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук, профессор,  
заслуженный деятель науки РФ  
Караваев Юрий Дмитриевич,

кандидат ветеринарных наук  
Скляр Олег Дмитриевич

Ведущая организация – ФГОУ ВПО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина

Защита диссертации состоится « 6 » декабря 2006 г. в 11<sup>00</sup> часов на заседании диссертационного совета Д 006.033.01 при ГНУ Всероссийский научно- исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко по адресу: 109 428, Москва, Рязанский проспект, д. 24, к.1, ВИЭВ им. Я. Р. Коваленко.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ВИЭВ им. Я. Р. Коваленко.

Автореферат разослан «31» октября 2006 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
профессор



Н.П. Овдиенко

## 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

1.1 Актуальность темы. В последние годы важной проблемой в овцеводстве является борьба с инфекционным эпидидимитом баранов (ИЭ), вызываемым *Brucella ovis*. Инфекционный эпидидимит баранов наносит значительный экономический ущерб овцеводству, обусловленный недополучением приплода, преждевременной выбраковкой маточного, в т.ч. племенного поголовья овец и баранов- производителей, уничтожением большого количества спермы, предназначенной для искусственного осеменения, затратами на проведение профилактических и оздоровительных мероприятий.

Борьба с инфекционным эпидидимитом баранов в большинстве случаев недостаточно эффективна из-за отсутствия средств специфической профилактики, включение которой в комплекс противозооотических мероприятий значительно повысит ее эффективность (Г. Ш. Абулхайров, В. А. Ромахов 1991; А.Ф. Руденко 1987; В. Аманжолов, 1981; Б. Н. Афанасьев, 1980; В.И. Ким, 1978; M.Afsal, C. V. Kiniberling, 1986).

С учетом возможности перекрестной иммунизации животных бруцеллами разных видов для специфической профилактики ИЭ используют те же вакцины, что и для профилактики бруцеллеза у овец (А. Н. Касьянов, В. А. Ромахов, 1980).

Вместе с тем установлено, что при бруцеллезе иммунитет непродолжительный и может быть преодолен массивной дозой возбудителя, даже после естественного переболевания, однако применение вакцин при одновременном выполнении ветеринарно-санитарных мер дает положительный результат. Поэтому многие исследователи за рубежом и в нашей стране занимаются изысканием более современных противобруцеллезных вакцин (Е. С. Орлов, П. С. Уласевич и др., 1976).

Часть из предлагаемых на сегодняшний день вакцин не соответствует требованиям, предъявляемым к препаратам подобного рода по показателям безвредности - вакцины 45/20, 53Н38 (Т. К. Касымов, 1985. 1988), часть - по резко выраженным агглютиногенным свойствам - штаммы 19, 104-М (E. Biderstein, Me. Cowan, R. Harzold, 1962; L. Kater, V. Hartley, 1963; Т. К. Касымов, 1988) и некоторые по недостаточно выраженным иммуногенным свойствам.

В лаборатории по изучению бруцеллеза ВИЭВ совместно с лабораторией биохимии была разработана инактивированная адьювант- вакцина против инфекционного эпидидимита баранов. В качестве адьюванта была использована смесь, содержащая 84% минерального масла ПЭС-3 и 16% безводного ланолина. Исследования показали, что препарат обладает сильно выраженной реактогенностью. У 8-10 процентов привитых животных на месте введения вакцины наблюдалось образование инкапсулированных соединительно- тканых гранул, а у части животных – асептические абсцессы.

В связи с этим для конструирования вакцины, лишенной этого недостатка, масляно- ланолиновый адьювант заменили гелем гидроокиси алюминия, изменили концентрацию микробных клеток антигена. Поэтому оценка эффективности этой модифицированной вакцины является актуальной.

1.2 Цель и задачи исследований. Целью настоящей работы являлась оценка модифицированной, инактивированной, экологически безопасной адьювант- вакцины «ЭВАК» из штамма 64/2 Бруцелла овис против инфекционного эпидидимита баранов. В задачи исследований входило:

1. Изготовить опытные серии модифицированной вакцины «ЭВАК.
2. Изучить безвредность вакцины и ее реактогенные свойства.
3. Изучить антигенные свойства модифицированной инактивированной адьювант- вакцины «ЭВАК».

4. Изучить иммуногенные свойства вакцины в лабораторных условиях.
5. Изучить эффективность вакцины «ЭВАК» при инфекционном эпидидимите баранов в неблагополучных по инфекционному эпидидимиту хозяйствах.

1.3 Научная новизна. Впервые в лабораторных и производственных опытах на баранах, овцах, морских свинках, кроликах и белых мышках изучены безвредность, антигенные, иммуногенные свойства, а также профилактическая эффективность модифицированной инактивированной адьювант-вакцины «ЭВАК» в профилактике и борьбе с инфекционным эпидидимитом баранов. Показана ее безвредность, антигенные, иммуногенные свойства, эффективность в производственных условиях. Ее применение позволяет оздоровить неблагополучные стада от инфекционного эпидидимита в течение 1,5-2 лет.

1.4 Практическая ценность. Внедрение вакцины в ветеринарную практику позволит значительно сократить сроки оздоровления неблагополучных хозяйств по инфекционному эпидидимиту баранов и снизить экономический ущерб, наносимый этой болезнью.

Применение модифицированной инактивированной адьювант-вакцины «ЭВАК» в общем комплексе мер в Астраханской области позволило оздоровить от инфекционного эпидидимита баранов 2 хозяйства в течение 2-х лет.

1.5 Личный вклад соискателя заключается в организации и проведении опытов по изучению антигенных, реактогенных и иммуногенных свойств модифицированной адьювант-вакцины «ЭВАК», испытание вакцины в неблагополучных по инфекционному эпидидимиту хозяйствах, анализ и обобщение полученных результатов.

1.6 Апробация работы. Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на:

- заседаниях Ученого совета Всероссийского научно- исследовательского института экспериментальной ветеринарии им Я.Р. Коваленко (ВИЭВ) в 2003, 2004, 2005 гг.;

- межлабораторном совещании сотрудников ВИЭВ в 2006 г.

1.7 Публикации. Основные положения диссертации опубликованы в 4-х научных работах.

1.8 Основные положения, выносимые на защиту.

- результаты изучения безвредности, реактогенных, антигенных, и иммуногенных свойств модифицированной адьювант- вакцины «ЭВАК»;

- результаты испытания вакцины в неблагополучных по инфекционному эпидидимиту баранов хозяйствах.

1.9 Объем и структура диссертации. Диссертационная работа представлена в одном томе, состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов и практических предложений. Диссертация изложена на 117 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 19 таблицами. Список использованной литературы включает 197 наименований, в т.ч. 51 иностранных авторов.

## **2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **2.1. Материалы и методы.**

Работа выполнена в лаборатории микобактериозов Всероссийского научно- исследовательского института экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко и на опытной базе Вышневолоцкого отдела ВИЭВ (Тверская область) и в 2-х неблагополучных по инфекционному эпидидимиту баранов хозяйствах Астраханской области в соответствии с утвержденными планами научно- исследовательских работ в период 2002 – 2005 гг. согласно Российской научно-

технической программы фундаментальных и приоритетных прикладных исследований по заданию 02.01.03.01.

Опытные серии вакцины «ЭВАК» готовили по следующей схеме:

1. Приготовление питательных сред для культивирования штамма Бруцелла овис 64/2.

2. Получение и накопление бактериальной массы.

- Высев из ампул лиофилизированной культуры штамма Бр. овис 64/2 на скошенный МППГА или эритроагар в пробирках и на этот же агар в чашках Петри (1-я генерация). Контроль чистоты культур (микроскопический и макроскопический).

- Выращивание материала на МППГА или эритроагаре в пробирках для получения матричной культуры (2-я генерация).

- Засев и выращивание культуры в четвертях (3-я регенерация) и смыв бактериальной массы физиологическим раствором с добавлением 0,5% формалина.

- Контроль инактивации полученного антигена.

3. Приготовление вакцины.

Вакцину готовили в соответствии с «Временной инструкцией по изготовлению и контролю инактивированной адьювант-вакцины «ЭВАК» против инфекционного эпидидимита баранов (ИЭ)», утвержденной директором ВИЭВ.

- В качестве адьюванта использовали гель гидроокиси алюминия.

- Разлив гидроокиси алюминия в стеклянные флаконы по 67 мл и автоклавирование в течение 30 минут при температуре  $115 \pm 2$  °С

- Контроль стерильности адьюванта путем высева на МПБ, МПА, МППБ под вазелиновом маслом и агар Сабуро.

- Приготовление смеси (антиген + адьювант) в соотношении 3,2 : 1.

- Контроль качества смеси антиген – адьювант.

- Расфасовка смеси антиген – адьювант во флаконы емкостью 100, 50 и 20 мл и их маркировка.

Для определения безвредности смесь вакцины из 5 флаконов в равных количествах вводили подкожно по 0,4 мл 10 белым мышам, в область спины и 2 кроликам, массой 2 – 2,5 кг по 0,5 мл подкожно в боковую стенку туловища слева и справа (всего 1 мл). За животными вели наблюдение в течение 10 дней.

Реактогенность модифицированной адьювант вакцины «ЭВАК» изучали на баранчиках в экспериментальных условиях и в неблагополучных по инфекционному эпидидимиту баранов хозяйствах.

В лабораторном опыте вакцину вводили баранчикам подкожно за локтевым суставом слева в бесшерстную часть в дозе 5 млрд. м.к., в объеме 0,5 мл.

Реакцию организма подопытных животных на введение вакцины определяли по общему состоянию баранчиков и по степени воспалительной отечности на месте инъекции. Проводили ежедневную термометрию в течение 10 дней.

В колхозах «Рассвет» и «Родина» вакцину «ЭВАК» применяли по следующей схеме: перед иммунизацией баранов- производителей, баранов- пробников и баранчиков старше 6-и месяцев исследовали на инфекционный эпидидимит баранов серологическим (РДСК) и дополнительно клиническим методами.

Оставшихся в отарах условно здоровых баранов колхоза «Рассвет» разделили на две группы. Животных первой группы (50 голов), иммунизировали вакциной «ЭВАК», серия № 11, контроль 11. Вакцину вводили подкожно в бесшерстную поверхность грудной клетки за локтевым суставом в дозе 0,5 мл (5 млрд. микробных клеток), а баранов второй группы (49 голов), оставили непривитыми, в качестве контроля. В колхозе «Родина» все условно здоровые животные (223) головы, были привиты аналогично 1-й группы колхоза «Рассвет».

У иммунизированных животных в течение 10 дней ежедневно проводили термометрию и измеряли воспалительную припухлость на месте инъекции.

Изучение антигенных свойств модифицированной инактивированной адьювант-вакцины «ЭВАК» проводили на морских свинках и баранчиках.

Для иммунизации морских свинок использовали вакцину Rev – I Br. melitensis. Вакцину вводили 10 морским свинкам подкожно, в область паха слева, в дозе 100 млн. микробных клеток в объеме 0,2 мл.

Для введения вакцины «ЭВАК», серия № 11 готовили общую пробу из 3-х флаконов с вакциной. Иммунизировали 10 морских свинок. Вакцину вводили подкожно, в область паха, в дозе 250 млн. микробных клеток в объеме 0,2 мл.

На баранчиках испытали вакцину «ЭВАК» в дозе 5 млрд. м.к. Провели два опыта, в первом опыте использовали 6 баранчиков, которым вводили вакцину 11 серии, во втором опыте – 4 баранчика, которым вводили вакцину 12 серии. Для введения вакцины «ЭВАК», готовили общую пробу из 3-х флаконов с вакциной. Вакцину вводили подкожно слева за локтевым суставом в бесперстную часть в дозе 5 млрд. м.к., в объеме 0,5 мл.

В целях выяснения иммунологического ответа на введение вакцины - сыворотку крови привитых животных исследовали в РБП, РА, РСК на бруцеллез и в РДСК на инфекционный эпидидимит баранов.

Иммуногенные свойства вакцины изучали на морских свинках и баранчиках.

В опыт было взято 30 морских свинок, которых разделили на 3 группы по 10 животных. Первую группу вакцинировали вакциной «ЭВАК», вторую – Rev-1, третья – контрольная (не вакцинированная). Через 4 месяца после вакцинации морских свинок заражали вирулентной культурой Br. ovis 8406. Культура вводилась в дозе 5 млн. микробных клеток (5ИД<sub>100</sub>). Через 38 дней после заражения подопытных и контрольных животных убили для бактериологического и патанатомического исследований. Бактериологические и патанатомические исследования проводили согласно действующего наставления.

Критерием иммунного состояния служило отсутствие выделения вирулентной культуры *Bt. ovis* из организма животных при бактериологическом исследовании.

У баранчиков иммунитет проверили через 10 и 12 месяцев после вакцинации. С этой целью в первом опыте, в котором баранчики были привиты вакциной «ЭВАК» (серия 12) через 10 месяцев после иммунизации, опытную и контрольную (не вакцинированную) группы заразили вирулентной культурой 8406 *Bt. ovis*. в дозе 5 млрд. м.к. (10 ИД<sub>100</sub>).

Убой, патологоанатомическое и бактериологическое исследование проводили через 35 дней после заражения.

Иммунитет у баранчиков вакцинированных «ЭВАК» (серия №11) проверили через 12 месяцев после прививки, путем подкожного заражения их вирулентной культурой *Bt. ovis* 8406 в дозе 2,5 млрд. микробных клеток (5 ИД<sub>100</sub>).

Убой и бактериологическое исследование животных проводили через 50 дней после заражения согласно действующего наставления.

Испытание эффективности модифицированной вакцины «ЭВАК» в производственных условиях проводили в колхозе «Рассвет» Наримановского района и в колхозе «Родина» Харабалинского района Астраханской области, неблагополучных по инфекционному эпидидимиту баранов.

До иммунизации животных провели ретроспективный анализ эпизоотической ситуации в этих хозяйствах.

В колхозе «Рассвет» условно здоровых баранов разделили на две группы. Животных первой группы иммунизировали вакциной «ЭВАК», серия № 11, контроль 11. Вакцину вводили подкожно в дозе 0,5 мл (5 млрд. микробных клеток), а баранов второй группы оставили непривитыми, в качестве контроля. В колхозе «Родина» были иммунизированы все условно здоровые животные.

С целью определения иммунологического ответа на введение вакцины через 15 дней, а в дальнейшем через каждые 30 дней после вакцинации, прово-

дили исследование сывороток крови привитых баранов в РДСК с овисным антигеном. Одновременно животных исследовали на бруцеллез (РА, РСК, РБП). Серологические исследования проводили согласно действующего наставления. Животных контрольной группы исследовали по этой же схеме.

Полученные в процессе работы цифровые показатели обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики.

Методики отдельных исследований изложены в соответствующих разделах диссертации.

## **2.2. Результаты исследований**

### **2.2.1. Определения безвредности модифицированной вакцины «ЭВАК».**

Для определения безвредности готовили смесь вакцины одной серии из 5 флаконов в равных количествах, которую испытали на белых мышах и кроликах.

Десяти белым мышам, массой 25-30 гр, вакцину вводили подкожно по 0,4 мл в область спины. Двум кроликам, массой 2 – 2,5 кг, вакцину вводили по 0,5 мл подкожно в боковую стенку туловища слева и справа (всего 1 мл). За животными вели наблюдение в течение 10 дней. Результаты исследований показали, что все мыши и кролики остались живыми, аппетит и температура тела находились в пределах физиологической нормы. При убое на месте введения вакцины не было никаких патологических изменений, что свидетельствует о безвредности препарата.

### **2.2.2. Результаты изучения реактогенности адьювант -вакцины «ЭВАК».**

Реактогенность изучали в лабораторном опыте на баранчиках и в неблагополучных по инфекционному эпидидимиту баранов хозяйствах.

В лабораторном опыте баранчикам вакцину вводили подкожно за локтевым суставом слева в бесшерстную часть в дозе 5 млрд. м.к., в объеме 0,5 мл.

Реакцию организма подопытных животных на введение вакцины определяли по общему состоянию животных и по степени воспалительной отечности на месте инъекции. Проводили ежедневную термометрию.

Установлено, что на месте введения вакцины образуются незначительные соединительно-тканые гранулемы, размером с горошину (от 0,1 до 0,8 см<sup>2</sup>), которые за 30 – 40 дней после иммунизации полностью рассасываются.

Аппетит у привитых животных за весь период наблюдения (10 дней) нормальный. Температура тела в пределах нормы.

В колхозах «Рассвет» и «Родина» вакцину вводили подкожно за локтевым суставом слева в бесшерстную часть в дозе 5 млрд. м.к., в объеме 0,5 мл.

У иммунизированных животных в течение 10 дней ежедневно проводили термометрию и измеряли воспалительную припухлость на месте инъекции.

Исследования показали, что на месте введения вакцины образуются подкожные воспалительные гранулемы в размере так же с горошину (0,3 – 0,8 см<sup>2</sup>), которые за 30 – 40 дней после иммунизации полностью рассасываются.

Аппетит и температура тела у вакцинированных животных сохранялись в пределах нормы.

Таким образом, результаты исследований показали слабую реактогенность вакцины «ЭВАК» для баранов.

2.2.3. Изучение антигенных свойств модифицированной инактивированной адьювант-вакцины «ЭВАК».

Антигенные свойства вакцины изучали на морских свинках и баранчиках. В целях выяснения иммунологического ответа организма животных на введение вакцины «ЭВАК» сыворотки крови привитых животных исследовали серологически в РА, РСК на бруцеллез с единым бруцеллезным антигеном, в РБП с цветным бруцеллезным антигеном и в РДСК с овисным антигеном на инфекционный эпидидимит.

Результаты серологического исследования сывороток крови привитых морских свинок приведены в таблице 1.

Таблица 1 - Результаты серологического исследования морских свинок в разные сроки после иммунизации

Сроки исследования в днях	Количество животных в группе	Реагировало положительно на:										
		бруцеллез							инфекционный эпидидимит			
		РА				РСК		РБП	РДСК			
		1:10	1:20	1:40	1:80	1:5	1:10		1:5	1:10	1:20	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Вакцинированные «ЭВАК» 250 млн. м.к.												
15	10	-	-	-	-	-	-	-	-	8	8	-
30	10	-	-	-	-	-	-	-	-	10	10	-
60	10	-	-	-	-	-	-	-	-	10	10	-
90	10	-	-	-	-	-	-	-	-	10	10	-
120	10	-	-	-	-	-	-	-	-	10	10	-
Вакцинированные Rev - I 100 млн. м.к.												
15	10	10	10	10	10	8	7	9	-	-	-	-
30	10	10	10	10	10	10	10	9	10	-	-	-
60	10	10	10	9	8	10	10	10	-	-	-	-
90	10	10	9	9	5	10	10	10	-	-	-	-
120	10	10	9	9	5	10	10	10	-	-	-	-

Из приведенных в таблице 1 данных видно, что во все сроки исследования проб сывороток крови в РА, РСК и РБП с бруцеллезным антигеном у животных, привитых вакциной Rev-1, были положительные, а у животных, привитых вакциной «ЭВАК», - отрицательные показания.

Сыворотки крови животных, привитых вакциной Rev-1, во все сроки исследования в РДСК были отрицательны. У морских свинок, привитых вакциной «ЭВАК», на 15-й день исследования дали положительные показания РДСК с сывороткой крови 8 животных (80%), а в период с 30-го по 120-й день исследования - все 10 морских свинок.

Результаты серологических реакций баранчиков представлены в таблице 2.

Таблица 2 -Результаты серологического исследования баранчиков

Сроки исследования в днях	Количество животных в группе	Реагировало положительно (голов) на:											
		бруцеллез в:							инфекционный эпидидимит в:				
		РА				РСК		РБП	РДСК				
		1:25	1:50	1:100	1:200	1:5	1:10		1:5	1:10	1:20	1:40	
Вакцинированные «ЭВАК» 5 млрд. м.к.													
15	6	-	-	-	-	-	-	-	-	4	2	1	-
30	6	-	-	-	-	-	-	-	-	6	6	6	2
60	6	-	-	-	-	-	-	-	-	6	6	5	1
90	6	-	-	-	-	-	-	-	-	6	6	2	-
120	6	-	-	-	-	-	-	-	-	6	6	2	-
150	6	-	-	-	-	-	-	-	-	4	4	1	-
180	6	-	-	-	-	-	-	-	-	4	2	1	-
210	6	-	-	-	-	-	-	-	-	4	4	-	-
240	6	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1	-	-
270	6	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-
300	6	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-
330	6	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	-	-
360	6	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	-	-

Во все сроки исследования от всех животных были получены отрицательные результаты в РА, РСК и РБП при исследовании с бруцеллезным антигеном. Постепенно уменьшалось количество животных с положительными показаниями РДСК с овисным антигеном. Так, до 4 месяцев все животные давали положительные показания. Через 150, 180 и 210 дней положительные показания были у 4 из 6 животных, через 240 – у 2-х и через 270 – у одного. Через 11 месяцев все животные дали отрицательные показания РДСК с овисным антигеном. Аналогичные результаты были получены во втором опыте с вакциной 12 серии. Таким образом, все вакцинированные животные активно вырабатывают антитела в течение 4-х месяцев к овисному антигену.

#### 2.2.4. Результаты изучения иммуногенных свойств вакцины «ЭВАК».

Для определения иммуногенных свойств модифицированной инактивированной адьювант-вакцины «ЭВАК», было необходимо провести титрацию штамма *Br. ovis* 8406 и выяснить минимальную инфицирующую дозу *Br. ovis*. Исследования проводили на морских свинках и баранчиках.

Результаты серологического и бактериологического исследований убитых морских свинок представлены в таблице 3.

Таблица 3- Результаты титрации *Br. ovis* штамма 8406 на морских свинках

№ группы	Кол-во животных в группе гол.	Доза <i>Br. ovis</i> 8406 в м.к.	Выделено культур:			Заразилось (голов)	Положительно реагировало в РДСК (голов)		
			всего	из лимф. узлов	из органов		10-й день	20-й день	30-й день
1	5	10	0	0	0	0	0	0	
2	5	100	0	0	0	0	0	5	
3	5	1 тыс.	7	7	0	3	0	5	
4	5	10 тыс.	12	7	5	3	2	5	
5	5	100 тыс.	15	9	6	4	5	5	
6	5	1 млн.	35	25	10	5	5	5	
7	5	10 млн.	32	21	11	5	5	5	
8	5	100 млн.	42	29	13	5	5	5	
9	5	1 млрд.	33	26	7	5	5	5	

Обозначения: м.к. – микробная клетка

Представленные в таблице 3 данные свидетельствуют о высокой вирулентности и антигенности взятого нами для заражения штамма *Br. ovis* 8406. Так, на дозу 1 тыс. микробных клеток из 5 морских свинок заразилось уже 3, на дозу 100 тыс. м.к. – 4 и на дозу 1 млн. м.к. – 5.

Полученные результаты исследований показали, что минимальная доза культуры, которая вызвала заражение всех животных в группе составляет 1 млн. микробных клеток (ИД<sub>100</sub>). Эта доза при подкожном введении вызывала заражение всех свинок с генерализованной формой, что подтверждается во всех случа-

ях выделением исходной культуры *Bg. ovis* (выделено 35 культур, в т.ч. 10 из паренхиматозных органов).

Результаты бактериологического и серологического исследований баранчиков на инфекционный эпидидимит баранов приведены в таблице 4.

Таблица 4- Результаты титрации *Bg. ovis* штамма 8406 на баранчиках

Кол-во животных в группе	Доза <i>Bg. ovis</i> 8406, в м.к.	Выделено культур			Заразилось	Положительно реагировало в РДСК		
		все-го	из лимфоузлов	из органов		10-й день	20-й день	30-й день
3	50млн.	8	6	2	1	2	3	3
3	500млн.	24	19	5	3	3	3	3
3	5млрд.	32	21	11	3	3	3	3
3	50млрд.	44	27	17	3	3	3	3
ИТОГО:		108	73	35				

Полученные результаты в опыте по определению минимальной инфицирующей дозы штамма *Bg. ovis* 8406 на баранчиках дают основание считать, что минимальная инфицирующая доза ( $ID_{100}$ ) для данного вида животных составляет 500 млн. микробных клеток, так как в этом случае заразились все баранчики в группе с выделением исходной культуры как из лимфатических узлов, так и из органов (генерализованная инфекция). У этих же животных отмечен антигенный ответ (положительные показания РДСК с сывороткой крови всех баранчиков на 10-й, 20-й и 30-й дни после заражения).

Иммуногенные свойства вакцины изучали на морских свинках и баранчиках.

В опыт было взято 30 морских свинок, которых разделили на 3 группы по 10 животных. Первую группу вакцинировали вакциной «ЭВАК», вторую – Rev-1, третья – контрольная (не вакцинированная). Через 4 месяца после вакцинации морских свинок заражали вирулентной культурой *Bg. ovis* штамма 8406. Культуру вводили в дозе 5 млн. микробных клеток ( $5ID_{100}$ ). Через 38 дней по-

сле заражения подопытных и контрольных животных убили для бактериологического и патанатомического исследований.

Результаты бактериологического исследования приведены в таблице 5.

Таблица 5 - Результаты бактериологического исследования паренхиматозных органов и лимфатических узлов от морских свинок

№ группы	Количество животных в группе	Какой вакциной привиты	Доза вакцины, м.к.	Срок проверки иммунитета (дней)	Доза заражающего штамма, в м.к.	Заразилось, голов	Иммунных		Выделено культур			Индекс инфицированности по группе
							гол.	%	всего	в том числе из:		
										лимф. узлов	паренхиматозных органов	
1	10	«ЭВАК»	250 млн.	120	5 млн.	2	8	80	2	2	0	2,0
2	10	Rev – I	100 млн.	120	5 млн.	4	6	60	6	5	1	6,0
3	10	-	-	-	5 млн.	10	0	0	41	28	13	41,0

Из таблицы 5 видно, что иммуногенная активность изучаемых вакцин была различной.

Более иммуногенной для морских свинок является вакцина «ЭВАК» - так как из 10 животных - 8 оказались иммунными (80%), в то время как в группе морских свинок, привитых вакциной Rev – I, было только 6 иммунных животных (60 %).

Все контрольные (не привитые) морские свинки заразились. У них развился генерализованный инфекционный процесс.

У баранчиков иммунитет проверили через 10 и 12 месяцев после вакцинации. С этой целью в первом опыте, в котором баранчики были привиты вакциной «ЭВАК» (серия 12) через 10 месяцев после иммунизации, опытную и контрольную (не вакцинированную) группы заразили вирулентной культурой *Vr. ovis* штамма 8406 в дозе 5 млрд. м.к. (10 ИД<sub>100</sub>).

Убой, патологоанатомическое и бактериологическое исследование проводили через 35 дней после заражения.

Иммунитет у баранчиков, вакцинированных «ЭВАК» (серия №11), проверили через 12 месяцев после прививки, путем подкожного заражения их вирулентной культурой *Vr. ovis* штамма 8406 в дозе 2,5 млрд. микробных клеток (5 ИД<sub>100</sub>).

Убой и бактериологическое исследование животных проводили через 50 дней после заражения.

Результаты бактериологического исследования приведены в таблице 6.

Таблица 6 – Результаты бактериологических исследований баранчиков через 10 месяцев после иммунизации вакциной «ЭВАК».

№ группы	Количество животных, гол.	Вакцина	Доза вакцины в млрд. м.к.	Срок проверки иммунитета (мес.)	Доза заражающего штамма млрд.(м.к.)	Заразилось (голов)	Иммунных		Выделено культур				Индекс инфицированности по группе
							ГОЛ	%	всего	В том числе из:			
										лимфатических узлов	паренхиматозных органов	семенников, придатков	
1.	4	«ЭВАК»	5	10	5	1	3	75	4	4	0	0	4,0
2.	3	контроль	-	-	5	3	-	-	46	26	8	12	61,2

Из данных таблицы 6 видно, что в первой группе, где животные были привиты модифицированной инактивированной адьювант-вакциной «ЭВАК» (серии №12), иммунных баранчиков оказалось 3 (75%).

В контрольной группе заразились все 3 баранчика. Выделено культур всего 46 (в среднем по 15,3 культуры на животное).

Следует отметить, что от заразившегося вакцинированного баранчика было выделено значительно меньше культур (4), чем от контрольных (17; 19; 10).

Иммунитет у баранчиков, вакцинированных «ЭВАК» (серия №11), проверили через 12 месяцев после прививки.

Результаты бактериологического исследования опытной и контрольной групп приведены в таблице 7.

Таблица 7 - Результаты бактериологического исследования баранчиков через 12 месяцев после иммунизации вакциной «ЭВАК».

№ группы	Количество животных	Вакцина	Доза вакцины, м.к.	Срок проверки иммунитета (мес.)	Доза заражающего штамма (м.к.)	Заразилось, голов	Иммунных		Выделено культур			Индекс инфицированности по группе
							гол.	%	всего	в том числе из:		
										лимф. узлов	органов	
1	6	«ЭВАК»	5 млрд.	12	2,5 млрд.	1	5	83,0	3	3	0	3.1
2	3	контроль	-	-	2,5 млрд.	3	0	0	42	29	13	87,5

Из данных таблицы 7 видно, что в группе, где животные были иммунизированы вакциной «ЭВАК» в дозе 5 млрд. микробных клеток, оказалось 83,0 % иммунных животных. В контрольной группе заразились все баранчики, от которых было выделено 42 культуры *Bt. ovis* штамма 8406. Таким образом, эти результаты показали высокие иммуногенные свойства испытуемой вакцины.

2.2.5. Результаты испытания эффективности модифицированной вакцины «ЭВАК» в производственных условиях.

Перед применением вакцины, провели ретроспективный анализ эпидемиологической ситуации в этих хозяйствах за последние 5 лет. Установлено, что поголовье баранов в этих хозяйствах исследовали на инфекционный эпидидимит в РДСК с овсяным антигеном. Положительно реагирующих животных сдавали на убой.

Результаты представлены в таблице 8.

Таблица 8 - Результаты серологического исследования на инфекционный эпидидимит баранов в хозяйствах за 1999-2003 гг.

Годы	к-з «Рассвет»			к-з «Родина»		
	исследовано голов	реагировало положительно		исследовано голов	реагировало положительно	
		голов	%		голов	%
1999	116	13	11,2	146	9	6,1
2000	137	18	13,1	283	7	2,4
2001	88	8	9,0	244	25	10,2
2002	101	11	10,8	341	17	4,9
2003	140	13	9,2	289	32	11,0

Как видно из таблицы 8, распространенность инфекционного эпидидимита среди баранов была значительной. В разные годы заболеваемость баранов составляла от 9 % до 13,1 % в колхозе «Рассвет» и 2,4 % - 11,0 % в колхозе «Родина».

Условно здоровых баранов колхоза «Рассвет» разделили на две группы. Животных первой группы иммунизировали вакциной «ЭВАК», серия № 11, контроль 11. Вакцину вводили подкожно в бесшерстную поверхность грудной

клетки за локтевым суставом в дозе 0,5 мл (5 млрд. микробных клеток), а баранов второй группы оставили непривитыми, в качестве контроля.

Всех условно здоровых баранов колхоза «Родина» иммунизировали вакциной «ЭВАК», серия №11, подкожно в бесшерстную поверхность грудной клетки за локтевым суставом в дозе 0,5 мл (5 млрд. микробных клеток).

Результаты клинического осмотра и серологических исследований представлены в таблице 10.

В группе вакцинированных животных колхоза «Рассвет» на 15-й день после прививки в РДСК на ИЭ реагировало 41 животное (82%), на 30-й, 60-й и 90-й дни положительные показания РДСК были с сыворотками крови всех 50 баранчиков (100%). Начиная с 4-го месяца опыта количество животных с положительными показаниями РДСК начинает постепенно снижаться. Через 11 месяцев после вакцинации положительно реагирующих животных в этой реакции не выявлено. Положительные реакции в РДСК у вакцинированных животных объясняются тем, что инактивированная адьювант-вакцина «ЭВАК», изготовленная из штамма 64/2 Вг. ovis, является препаратом достаточно высокой антигенности.

Баранов с клиническими признаками инфекционного эпидидимита за весь период наблюдения не установлено.

В группе контрольных животных в течение всего опыта положительная РДСК получена с сыворотками крови 15 баранов. При клиническом исследовании было выявлено 5 животных с клиническими признаками.

У иммунизированных баранов колхоза «Родина» положительная РДСК на инфекционный эпидидимит с сыворотками крови получено на 15-й день у 23,7 %, а на 30-й – 99,1%. На 60-й день исследования, все животные реагировали положительно. Затем процент положительно реагирующих животных стал снижаться, и к 11-му месяцу исследования животных, положительно реагирующих на инфекционный эпидидимит с овисным антигеном в РДСК не выявлено.

Таблица 10- Результаты применения вакцины «ЭВАК» в хозяйствах, неблагопо-  
лучных по инфекционному эпидидимиту баранов

Сроки исследования в днях	Вакцинированные						Контрольные					
	Исследовано (го- лов)	Выявлено:				Исследовано (голов)	Выявлено:					
		с положитель- ными показан- иями РДСК		клинически больных			с положитель- ными показан- иями РДСК		клинически больных			
		Колоче- ство (голов)	%	Колоче- ство (голов)	%		Колоче- ство (голов)	%	Колоче- ство (голов)	%		
<b>Колхоз «Рассвет»</b>												
15	50	41	82	-	-	49	0	0	0	0		
30	50	50	100	0	-	49	0	0	-	-		
60	50	50	100	-	-	45	2	4,4	2	4,4		
90	50	50	100	0	-	43	1	2,3	1	2,3		
120	50	47	94	-	-	42	0	0	-	-		
150	48	34	68	-	-	42	4	9,5	-	-		
180	48	30	62,5	0	-	38	0	0	1	2,6		
210	42	18	42,9	-	-	38	2	5,2	-	-		
240	37	7	18,9	-	-	36	3	8,3	-	-		
270	37	3	8,1	0	-	33	0	0	0	0		
300	37	2	5,4	-	-	33	0	0	-	-		
330	37	0	0	-	-	33	3	7	-	-		
360	37	0	0	0	-	30	0	0	1	3,3		
<b>Колхоз «Родина»</b>												
15	223	53	23,7	0	-	-	-	-	-	-		
30	223	221	99,1	0	-	-	-	-	-	-		
60	223	220	98,6	0	-	-	-	-	-	-		
90	220	217	98,6	0	-	-	-	-	-	-		
120	220	220	100	0	-	-	-	-	-	-		
150	220	202	91,8	0	-	-	-	-	-	-		
180	218	216	99,0	0	-	-	-	-	-	-		
210	218	201	92,2	0	-	-	-	-	-	-		
240	215	179	36,7	0	-	-	-	-	-	-		
270	215	31	14,4	0	-	-	-	-	-	-		
300	210	10	4,7	0	-	-	-	-	-	-		
330	210	0	0	0	-	-	-	-	-	-		
360	201	0	0	0	-	-	-	-	-	-		

Дальнейшие четырехкратные клинические исследования, проведенные через год после вакцинации, показали, что баранчиков с клиническими признаками инфекционного эпидидимита и реагирующих в РДСК с овисным антигеном не выявлено, что говорит о полном оздоровлении отары баранов от данной болезни.

Таким образом, иммунизация животных модифицированной инактивированной адьювант-вакциной «ЭВАК» в двух хозяйствах, неблагополучных по инфекционному эпидидимиту баранов, показало эффективность данной вакцины в борьбе с указанной болезнью.

## ВЫВОДЫ

1. Модифицированная инактивированная адьювант-вакцина «ЭВАК» безвредна, обладает незначительными реактогенными свойствами, выражающимися образованием воспалительной припухлости на месте введения препарата размером с горошину ( $0,3 - 0,8 \text{ см}^2$ ), которая полностью рассасывается в течение 30 – 40 дней после иммунизации.
2. Установлено, что модифицированная адьювант-вакцина «ЭВАК» предохраняет от заражения вирулентной культурой 8406 Br. ovis 80% морских свинок через 4 месяца после прививки, 75% баранов через 10 месяцев и 83% баранчиков через 12 месяцев после вакцинации.
3. Показано, что модифицированная адьювант-вакцина «ЭВАК» вызывает у привитых баранчиков образование комплементсвязывающих антител, улавливаемых в РДСК с овисным антигеном в течение 10 месяцев после иммунизации.
4. Выявлено, что модифицированная адьювант-вакцина «ЭВАК» не вызывает у привитых баранов образование противобруцеллезных антител,

что позволяет исследовать животных на «классический» бруцеллез с единым антигеном, в любые сроки после вакцинации.

5. Иммунизация баранов вакциной «ЭВАК» в общем противозпизотическом комплексе мер, позволяет оздоровить неблагополучные по инфекционному эпидидимиту баранов хозяйства.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ**

С учетом результатов экспериментальных исследований и производственного испытания модифицированной инактивированной адьювант-вакцины «ЭВАК» против инфекционного эпидидимита баранов в 2-х хозяйствах Астраханской области мы предлагаем ее внедрить в практику и применять для оздоровления неблагополучных по инфекционному эпидидимиту баранов хозяйств. Результаты исследований использованы при разработке «Временной инструкции по применению вакцины «ЭВАК» против инфекционного эпидидимита баранов (ИЭ)», представленной к рассмотрению на Ученом Совете ВИЭВ.

## **СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Павлова А. В. Иммуногенные свойства инактивированной адьювант –вакцины «ЭВАК» в опыте на морских свинках \ А. В. Павлова, М. П. Альбертян \ «Ветеринарная патология», №1, 2006, стр. 102-105.
2. Павлова А. В. Опыт по титрации штамма *Bt. ovvis* 8406 на морских свинках и баранчиках \ А. В. Павлова, М. П. Альбертян \ «Ветеринарная патология», №1, 2006, стр. 105-107.
3. Павлова А. В. Изучение вирулентных свойств культуры из штамма *Bt. ovvis* 8406 на морских свинках и баранчиках \ М.П. Альбертян, М.И. Искандаров,

А.И. Федоров, А. В. Павлова\ Материалы международной научно- практической конференции «Актуальные проблемы инфекционной патологии и иммунологии животных», М., 2006г., с. 145-147.

4. Павлова А. В. Основные биологические свойства усовершенствованной инактивированной адьювант- вакцины «ЭВАК»\ М.П. Альбертян, М.И. Искандаров, А.И. Федоров, А. В. Павлова\ Материалы международной научно- практической конференции «Актуальные проблемы инфекционной патологии и иммунологии животных», М., 2006 г., с. 148-150.

Принято к исполнению 27/10/2006  
Исполнено 30/10/2006

Заказ № 824  
Тираж: 100 экз.

Типография «11-й ФОРМАТ»  
ИНН 7726330900  
Москва, Варшавское ш., 36  
(495) 975-78-56  
[www.autoreferat.ru](http://www.autoreferat.ru)



