



003488158

На правах рукописи

СВИНЦОВ РОМАН АНДРЕЕВИЧ

**ИММУНОМОРФОГЕНЕЗ ВАКЦИННОГО ПРОЦЕССА ПРИ
ПРИМЕНЕНИИ РАЗЛИЧНЫХ ШТАММОВ БРУЦЕЛЛ.**

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

16.00.02 – патология, онкология и морфология животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

10 ДЕК 2009

Казань – 2009

Работа выполнена в ФГОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э.Баумана» и ФГУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных»

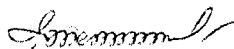
Научный руководитель:	доктор ветеринарных наук, профессор Авзалов Фоат Зиятдинович
Научный консультант:	доктор ветеринарных наук, профессор Фомин Алексей Максимович
Официальные оппоненты:	доктор биологических наук, профессор Хисматуллина Наиля Анваровна доктор ветеринарных наук, профессор Ежова Маргарита Степановна
Ведущая организация:	ФГОУ ВПО «Уральская государственная сельскохозяйственная академия»

Защита состоится «22» декабря 2009г. в 14 часов на заседании диссертационного совета Д-220.012.01 при ФГУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных» (420075, Казань, Научный городок-2, (843)239-53-33)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГУ «Федеральный Центр токсикологической и радиационной безопасности животных» (г. Казань)

Автореферат разослан «20» ноября 2009 г.

Учёный секретарь диссертационного совета, кандидат ветеринарных наук



В. И. Степанов

1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

1.1 Актуальность темы. Проблема бруцеллёза является значимой во многих странах мира. В Европе мероприятия против этого заболевания начали проводить с конца 19 века. От начала внедрения до полного решения проблемы требовалось от 40 до 80 лет. Но в странах, где животных оздоровили, затем нередко возникали рецидивы болезни. Успех оздоровления во всех случаях определялся и напрямую зависел от экономических ресурсов, которыми располагала страна. В России планомерное изучение бруцеллёза, как нозологической единицы, началось в 30-х годах 20-го века, когда после специального постановления органов исполнительной власти бруцеллёз животных и человека был включён в группу болезней, подлежащих обязательной регистрации (Басков Н.И., 2006; Фредерик А.М., 1990).

В системе противозпизоотических мероприятий при бруцеллёзе решающую роль всегда играла специфическая профилактика. Большой научный и практический опыт показывает, что даже в обширных зонах распространения бруцеллёза эпизоотический процесс, при создании и поддержании в неблагополучных и угрожаемых стадах перманентного иммунитета с помощью разных схем вакцинации и планомерным вытеснением всего скопрометированного поголовья, был всегда управляемым (Иванов А.В., 2006; Косилов И.А., 2000; Салмаков К.М., 2001; Фомин А.М., 2006).

Последнее обстоятельство позволяет осуществлять эпизоотологический контроль за привитым поголовьем при карантинировании, выводе, вводе, продаже, снятии ограничений, а также при санитарной оценке животных перед убоем (Аракелян П.К., 2008).

Вышеизложенное позволяет заключить, что профилактические мероприятия против бруцеллёза, а в частности изыскание новых более эффективных вакцинных препаратов, продолжает оставаться одной из актуальных проблем в ветеринарии не только нашей страны, но и во всём мире.

1.2 Цель и задачи исследования. Целью данной работы была иммуноморфологическая оценка новых вариантов противобруцеллёзных вакцин, в том числе антибиотикорезистентных, инактивированных радиацией, в сравнении с уже известными и изученными штаммами и в сочетании с иммуномодулятором.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- выяснить динамику иммуноморфологической перестройки организма лабораторных животных и мелкого рогатого скота при применении новых противобруцеллёзных вакцин, в том числе и при сочетанном их применении с иммуномодулятором;

- изучить динамику уровня Т и В лимфоцитов в крови подопытных животных при иммунизации их новыми вакцинными штаммами бруцелл и при применении иммуномодулятора;

- определить количественные показатели лизосомальных катионных белков в крови и различных органах подопытных животных, привитых новыми вакцинными штаммами бруцелл;

- разработать и применить реакцию бласттрансформации для изучения иммуногенных свойств новых вакцинных штаммов бруцелл при введении их в организм подопытных животных;

- провести биохимические исследования крови некоторых групп животных, привитых новыми вакцинными штаммами бруцелл.

1.3 Научная новизна. Нами осуществлено комплексное изучение иммуноморфологической перестройки организма животных при иммунизации их новыми вакцинными штаммами бруцелл.

Впервые с использованием новых методических приёмов определили показатели клеточного звена иммунитета (по Т- и В- лимфоцитам) с установлением динамики Т- хелперов и Т- супрессоров при иммунизации животных противобруцеллёзными вакцинами.

Разработан и применён в исследованиях по оценке новых вакцин модифицированный вариант реакции бласттрансформации лимфоцитов.

Впервые были установлены параметры биохимических показателей крови лабораторных животных и мелкого рогатого скота, показатели лизосомальных катионных белков при применении новых γ -инактивированных, антибиотикорезистентных и уже известных живых вакцинных штаммов бруцелл в сочетании с иммуномодулятором и без него.

1.4 Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные в результате всесторонних исследований вакцинированных животных данные демонстрируют иммунологические свойства изучаемых вакцин и указывают на наиболее лучшие варианты из них, которые в дальнейшем будут применяться при специфической профилактике бруцеллёза. Результаты исследований диссертации, её основные положения и выводы также используются в учебном процессе профильных высших профессиональных учреждений.

1.5 Апробация материалов диссертации. Материалы диссертации представлены, доложены и одобрены на Всероссийской научно-практической конференции (г. Казань 2007); 16-й Всероссийской научно-методической конференции по патологической анатомии животных (г. Ставрополь 2007); на Всероссийской научно-практической конференции, посвящённой 75 летию Дагестанской государственной сельскохозяйственной академии (г. Махачкала 2007); на 9-й Международной научно-практической конференции молодых учёных и специалистов (г. Троицк, 2007); на Всероссийском конкурсе по ПФО на лучшую научную работу среди аспирантов и молодых учёных (г. Казань. 2008); на Международной научно-практической конференции, посвящённой 135-летию Казанской государственной академии ветеринарной медицины им Н.Э. Баумана (г.

Казань 2008); на Международной конференции молодых учёных и аспирантов «Молодые учёные агропромышленному комплексу» посвящённой 90- летию Горского государственного аграрного университета (г. Владикавказ 2008).

1.6 Публикация результатов исследований. По теме диссертации опубликовано 10 научных работ в научных журналах «Ветеринарный врач», «Учёные записки КГАВМ» и материалах сборников Международных и Всероссийских научно-практических конференций, из них 2 публикации в изданиях рекомендованных ВАК РФ.

1.7 Внедрение результатов исследований. По результатам исследований разработаны «Методические указания по применению живой вакцины из антибиотикорезистентного штамма В. abortus 82- Sr для экстренной защиты лабораторных животных от бруцеллёза» и «Методические указания по дифференциации культур бруцелл штамма 82- Sr от культур вирулентных штаммов и вакцинного штамма 82», которые внедрены в научную работу сотрудников ФЦТРБ – ВНИВИ г. Казань и учебный процесс на кафедрах патанатомии и гистологии, эпизоотологии и микробиологии КГАВМ.

1.8 Основные положения выносимые на защиту:

- результаты иммуноморфологических, цитохимических и иммунологических исследований при иммунизации морских свинок антибиотико-резистентными противобруцеллёзными вакцинными штаммами 82-Tr и 82- Sr свидетельствуют об их высоких иммуногенных свойствах;
- иммуноморфологические, биохимические и иммунологические показатели у мелкого рогатого скота, привитого инаktivированными гамма облучением штаммами бруцелл, показало меньшую активность иммунологической перестройки организма, по сравнению с воздействием живых вакцин из штаммов 82 и 19;
- Использование тиосульфата натрия в качестве иммуномодулятора при одновременном введении его с испытуемыми вакцинами обусловило иммуностимулирующее воздействие на организм.

1.9 Объём и структура диссертации. Диссертация изложена на 213 страницах и включает: Общую характеристику работы, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований, обсуждение результатов исследований, выводы, практические предложения, список использованной литературы (всего 202 источника, в том числе 32 иностранных) и приложения, изложенные на 53 страницах, иллюстрирована 14 таблицами, 4 графиками и 76 рисунками.

2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работу выполняли на кафедре патанатомии и гистологии ФГОУ ВПО «Казанская Государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э.Баумана», на материале, взятом от морских свинок и мелкого рогатого скота, которые использовались в совместных научно-экспериментальных

опытах по изучению противобруцеллёзных вакцин в ФЦТРБ – ВНИВИ г. Казани. Некоторые этапы работы проводили в комплексе с аспирантами Крючковым Р.А., Салмаковой А.К., Косаревым М.А.

В пяти сериях опытов использовали лабораторных и сельскохозяйственных животных в количестве 167 голов, в том числе морских свинок 149 и 18 голов мелкого рогатого скота.

В первой серии опытов изучали динамику морфологических изменений у лабораторных животных, иммунизированных вакцинами из штаммов 82 и 82-Тг в сравнительном аспекте. Опыт проводили на 35 морских свинках, разделенных на 5 групп.

Первую и вторую группы иммунизировали вакцинным штаммом 82 в дозе 1,5 млрд.м.к., который вводили подкожно во внутреннюю область правого паха, третью и четвертую штаммом 82 Тг в той же дозе и тем же методом. А пятая группа оставалась интактной. Затем через 15 дней и в последующем через 1 месяц, 2 месяца, 3 месяца брали кровь у трех морских свинок из каждой группы для серологических исследований в РБП, РА, РСК и РСК с R-антигеном.

Спустя три месяца после первичной иммунизации провели ревакцинацию животных первой и третьей групп теми же вакцинными штаммами и в тех же дозах. И спустя три месяца после повторной вакцинации произвели заражение всех морских свинок, как опытных, так и контрольной групп вирулентной культурой из штамма 54 М ВГНКИ. Через месяц после заражения был произведен убой морских свинок, где был взят материал для изучения морфологических изменений, кровь для подсчета Т и В лимфоцитов и изготовлены мазки крови на определение количества лизосомальных катионных белков (ЛКТ).

Во второй серии опытов было изучено влияние иммуномодулятора тиосульфата натрия на иммуногенез у морских свинок, привитых вакциной из штамма 82 Тг и вакциной из штамма 82, в сравнительном аспекте.

В опытах были использованы 40 морских свинок, которые были разделены на 5 групп. В первой группе состоящей из 10 голов, прививку осуществляли культурой штамма 82- Тг подкожно в область паха в дозе 1,5 млрд м.к. (по стандартному отраслевому образцу мутности ГНИИСК им. П.А.Тарасевича (ОСС)) в объеме 1 мл на фосфатном забуференном физиологическом растворе хлористого натрия. Вторую группу (7 голов) иммунизировали этой же вакциной с 30% раствором тиосульфата натрия.

Животных третьей группы (10 голов) прививали подобным образом культурой из штамма 82 в дозе 1 млрд. м.к., в свою очередь четвертую группу (7 голов) прививали этой же вакциной в сочетании с тиосульфатом натрия. А пятая группа морских свинок (6 голов) оставалась интактной и служила в качестве контроля. Спустя 15, 30 и 60 суток с момента иммунизации у животных брали из ушной вены кровь для серологических исследований. А через 3 месяца провели заражение вирулентной культурой из штамма V.abortus 54М ВГНКИ в дозе 50 м.к. в объеме 1 мл (10

минимальных инфицирующих доз). Убой животных проводили через 30 дней после их инфицирования.

Третья серия опытов заключалась в изучении стабильности штамма *B. abortus* 82-Sr при его последовательных пассажах через организм морских свинок и искусственных питательных средах. В этой серии использовали 22 морские свинки. Лабораторные животные были разделены на 10 групп по две головы в каждой. Первой группе в области паха подкожно вводили взвесь культуры штамма 82-Sr в дозе 1, 7 млрд. м.к. в объеме 1 мл. Спустя 21 день после иммунизации проводили убой морских свинок. Взятый материал был подвергнут исследованию серологическими, бактериологическими и иммуноморфологическими методами. Для изучения гуморального звена иммунитета ставили РБП, РА, РСК с R- и S- антигенами, а для изучения клеточного иммунитета РБТЛ и подсчет Т и В лимфоцитов, а так же готовили гистосрезы и мазки-отпечатки из органов животных.

Выделенную от морских свинок культуру вводили вновь другим животным и т.д. Всего проведено 10 пассажей.

После проведенных пассажей осуществляли сравнительное изучение культурально-морфологических свойств исходной культуры и культуры 10-го пассажа.

В четвёртой серии опытов проводили изучение иммуногенных свойств живой вакцины из штамма 82-Sr. В опыте было использовано 52 лабораторных животных, которых разделили на 5 групп. Первую (12) и вторую (13) группы животных прививали вакциной из штамма 82-Sr, подкожно в область паха в дозе 1,7 млрд м.к. в объеме 1 мл на фосфатном забуференном физиологическом растворе хлористого натрия. Третью (11) и четвертую (10) группы иммунизировали вакциной из штамма 82 в дозе 1 млрд м.к. в объеме 1 мл. А пятая (6 голов) оставалась интактной, в качестве контроля. Через 15 дней, и 1 и 2 месяца после вакцинации брали кровь из ушной вены для исследования в РБП, РА, РСК с R-антигеном. Через 2 месяца после иммунизации животных первой и третьей групп ревакцинировали соответственно теми же вакцинами и в тех же дозах. Затем брали кровь из ушной вены на 15 день и через месяц для серологических исследований. Через два месяца после ревакцинации и четыре месяца после первичной вакцинации, до их заражения, из каждой группы, кроме пятой, по три животных подвергли эвтаназии с последующим комплексным исследованием, отобранного при убое материала. Оставшихся морских свинок заразили вирулентной культурой из штамма *B. abortus* 54 М ВГНКИ. Через месяц после инфицирования, проводили убой всех лабораторных животных.

В пятой серии опытов изучали антигенные и иммуногенные свойства γ-инактивированных культур бруцелл.

Убитые вакцины из штаммов 86 и 82 готовили путем инактивации взвеси бруцелл облучением на гаммаустановке «Исследователь» кобальт -60 с экспозицией мощностью 14 кГр/час в дозе 30 кГр. Полноту инактивации

устанавливали путем высева γ -облученных взвесей на элективные питательные среды.

В опыте было использовано 18 голов овец. Иммунизация проводилась по следующей схеме. Первая группа, состоящая из 2 голов, была иммунизирована культурой из штамма 86 γ -инактивированной в дозе 50 млрд м.к. подкожно с внутренней стороны за локтевым суставом на фосфатно-забуференном физиологическом растворе хлористого натрия в объеме 2,2 мл. Вторая группа из 3 голов прививалась культурой штамма 86 γ -инактивированной в дозе 50 млрд м.к. в сочетании с иммуномодулятором тиосульфатом натрия в дозе 750 мг на голову, в объеме 3 мл. Третья группа, состоящая из двух голов, вакцинирована штаммом 82-инактивированным γ -лучами, в дозе 50 млрд м.к. в объеме 2 мл. А четвертая группа (3 головы) привита этой же вакциной, но в сочетании с тиосульфатом натрия в объеме 3 мл. Пятая группа подопытных животных, была привита штаммом живой вакцины *B.abortus* 82 в дозе 40 млрд м.к. в объеме 2 мл. В шестой группе, состоящей из 2 голов, вакцинацию провели живой вакциной *B.abortus* из штамма 19 в дозе 40 млрд м.к. в объеме 2 мл. А седьмая контрольная группа из 4 голов оставалась не вакцинированной.

До и после иммунизации в течение трех суток проводили термометрию животных электронным термометром. После иммунизации через 1, 2, 3 и 4 месяца брали кровь для серологического и биоцитохимического исследований. Спустя 4 месяца после вакцинации всех подопытных и контрольных животных, заразили культурой вирулентного штамма *B.melitensis* 102-Н подкожно в дозе 200 тыс.м.к. Убой инфицированных овец был проведен через 30 дней после заражения.

Для иммуноморфологических исследований при убое животных были взяты кусочки лимфоидных и паренхиматозных органов. Взятый материал был зафиксирован в 12% растворе нейтрального формалина, спирт-формоле (9:1) и жидкости Карнуа. Фиксированные кусочки подвергались уплотнению путём заливки в парафин и целлоидин-парафин по общепринятой методике (Меркулов Г.А. 1969), после чего из них изготавливались гистологические срезы на санном микротоме. Для некоторых специальных окрасок были изготовлены замороженные срезы. Гистологические срезы окрашивались гематоксилин-эозином, по Романовскому-Гимза, Ван-Гизону, для гистохимических реакций на РНК по Браше, ДНК по Фельгену.

Постановку РБТЛ осуществляли по методике, предложенной М.М.Авербахом с соавт.(1974) в нашей модификации. Для этого лимфоциты с плазмой отсасывали в объёме 5мл пипеткой и переносили во флаконы для постановки РБТЛ. После определения концентрации лимфоцитов, путём подсчёта в камере Горяева, взвесь разводили средой 199, так чтобы в 1мл. среды был 1млн. лимфоцитов. Полученную взвесь разливали во флаконы по 5мл., куда добавляли стерильный цетофаксим натрия (талцеф), для подавления сопутствующей микрофлоры. В качестве антигенного стимулятора добавляли единый бруцеллёзный антиген из штамма 199 для постановки РА, РДСК, РСК в оптимальной для реакции дозе (50мк/мл).

Флаконы без добавления антигена служили в качестве контроля. Все флаконы плотно закрывали резиновыми пробками и помещали в термостат при 37°C в горизонтальном положении на трое суток. Через трое суток из флаконов пипеткой отсасывали 4мл. питательной среды. Осадок тщательно суспендировали в оставшемся 1мл среды, а затем переносили в центрифужные пробирки и центрифугировали при 1000 об/мин. в течение 10 минут. Надосадочную жидкость осторожно отсасывали пипеткой, клетки тщательно ресуспендировали в оставшейся капле среды и переносили на сухие предметные стёкла. Готовили тонкие мазки, которые высушивали на воздухе, после чего фиксировали метанолом в течение 10-15сек. и окрашивали азури-эозином. Для определения процентного соотношения бластов, лимфоцитов и переходных форм клеток в мазках, световым микроскопом под иммерсией подсчитывали в разных полях 500 клеток.

Определение Т и В лимфоцитов осуществляли в реакции спонтанного розетко-образования по методу M.Jondal et al (1972) в модификации Р.В.Петрова с соавт. (1997) и А.В. Зурочка (1984).

Для проведения цитохимических исследований из нефиксированных кусочков органов и периферической крови изготавливались мазки-отпечатки, которые были окрашены, бромфеноловым синим по методу М.Г.Шубич (1974), О.Т. Муллакаева (1990), Д.В. Задорожного (1999) и др., на предмет определения лизосомальных катионных белков в гранулоцитах.

Определение ферментативной активности: аланинаминотрансферазы (ALT), аспартатаминотрансферазы (AST) осуществляли на биохимическом анализаторе «Kobas Mira Plus» (производства Австрия) с реактивами фирмы «Diasis» (Германия). Содержание креатинина (Cr), мочевины (Urea), и билирубина (Bi) в сыворотке крови так же определяли на биохимическом анализаторе с использованием реактивов фирмы «Roche» (Австрия). Количество глюкозы определяли на анализаторе «Biosen- 5040» (производства Германии).

Статистическую обработку полученных цифровых данных проводили на ПК с использованием компьютерной программы Microsoft Excel.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Динамика морфологических изменений у лабораторных животных, иммунизированных вакциной из штамма B.abortus 82-Tr

При применении штамма 82- Tr в качестве вакцинного препарата отмечалась иммуноморфологическая перестройка организма привитых животных. Динамика морфологических изменений при этом характеризовалась формированием в селезёнке значительного числа вторичных фолликулов, имеющих довольно крупные размеры и светлые центры, которые содержали пронинофильные ретикулярные клетки и клетки лимфоцитарного ряда, с преобладанием бластных их форм. Стенки многих центральных артерий фолликулов подвергались мукоидному

набуханию, вокруг которых чётко проявлялась компактная зона органа, состоящая из Т- лимфоцитов. Маргинальная зона органа, в основном состоящая из обогащённых РНК дендритных ретикулярных клеток, окружённых лимфо-плазмоцитарными клетками. Селезёночные тяжи густо инфильтрировались богатыми РНК плазматическими клетками, в основном зрелыми их формами. Венозные синусы красной пульпы расширялись, умеренно депонировались кровью и содержали значительное число клеток плазмоцитарного ряда, макрофагов загруженных гемосидерином; единичные нейтрофилы, эозинофилы и лаброциты. Одновременно с гиперплазией лимфоидной ткани и нарастания количества макрофагов и плазматических клеток в красной пульпе происходило набухание и огрубение ретикулярной стромы органа, трабекулярного аппарата и развитие васкулитов в сосудах мелкого калибра.

Гистологическое исследование лимфатических узлов показало, что наиболее интенсивно процессы иммуноморфологической перестройки происходят в регионарных. В этих лимфоузлах была отмечена заметная активация ретикулярной и лимфоидной тканей в ответ на введение антигена, которые характеризовались гиперплазией и формированием вторичных фолликулов, большинство которых имели крупные размеры. Светлые центры этих фолликулов имели чёткие очертания и содержали на фоне пиронинофильных ретикулярных клеток, значительное число клеток лимфоцитарного ряда, которые в основной своей массе представлены лимфобластами, большими и средними лимфоцитами. Мякотные тяжи мозгового вещества были гиперплазированы и содержали значительное число, обогащённых РНК, клеток плазмоцитарного ряда, находящихся в различной стадии дифференциации. Краевые и промежуточные синусы были умеренно расширены, а центральный синус находился в состоянии лимфостаза. В просвете расширенных синусов, среди «береговых» и «мостовых» клеток было заметно увеличение числа макрофагов и клеток лимфоплазмоцитарного ряда. Кроме того были заметны полнокровие сосудов мозгового вещества с мукоидным набуханием стенок некоторых из них, отёк и разрыхление трабекул. В контррегиональных (отдалённых) лимфоузлах были выявлены сходные изменения, но они были менее выражены.

В печени вакцинированных морских свинок, наблюдались набухание и повышение пролиферативной активности звёздчатых ретикулэндотелиоцитов, нарастание количества паренхиматозных клеток с гиперхромными и диплоидными ядрами, а также явления зернистой и вакуольной дистрофии гепатоцитов. В междольковой соединительной ткани вокруг триад печени выявлялись небольшие очаговые скопления лимфоидно-макрофагальных клеток.

В лёгких подопытных морских свинок отмечали резкое расширение и полнокровие сосудов, в некоторых с явлениями продуктивного васкулита, повышение числа макрофагов, утолщение межалъвеолярных перегородок за счёт пролиферации лимфоидно-гистиоцитарных клеток, местами с

формированием в соединительнотканной строме небольших по размеру, компактных лимфофолликулов.

Морфологические изменения в почках характеризовались расширением и полнокровием сосудов, острым серозным гломерулитом, с явлениями зернистой дистрофии эпителия канальцев, формированием эпителиоидноклеточных гранулём, а также пролиферацией лимфоидно-макрофагальных клеток по ходу интерстиция. Гистологические изменения других органов были малохарактерными.

При ревакцинации и заражении подопытных животных наблюдали однотипную морфологическую картину, но она проявлялась с более выраженной интенсивностью, поскольку отмечалась повторная гиперпластическая реакция лимфоидной ткани регионарного лимфоузла и селезёнки с нарастанием в них количества плазматических клеток.

У контрольных групп морских свинок, заражённых вирулентной культурой бруцелл, без предварительной вакцинации, гиперпластическо-пролиферативные процессы ретикуло-гистиоцитарных клеток органов развивались хотя и острее, но не достигали той высоты, что наблюдалась у иммунизированных животных. Поэтому после заражения отмечались тяжёлые дистрофическо-некротические изменения в лимфоидных и паренхиматозных органах.

3.2 Определение количественных показателей Т и В лимфоцитов, лизосомальных катионных белков в крови животных, привитых вакцинным штаммом V.abortus 82-Tr

Наряду с изучением иммуноморфологических изменений, нами были проведены исследования клеточных механизмов защиты организма при введении штамма 82- Tr. Результаты количественного определения Т и В клеток показали увеличение общего количества Т лимфоцитов в 1,3 раза, Th(хелперов) 3,9, Ts(супрессоров) 1,4 раза и В лимфоцитов в 1,4 раза. Что свидетельствует о включении в процесс иммуногенеза клеточного звена иммунной защиты.

При оценке эффективности этой вакцины, а также для определения уровня естественной резистентности организма, нами использовался лизосомально-катионный тест (ЛКТ). Результаты этих исследований показали, что количество лизосомальных катионных белков в крови подопытных животных привитых штаммом 82- Tr, было выше, чем у интактных в 1,1 раза, а СЦП (средний цитохимический показатель) в 1,3 раза. Эти данные свидетельствуют о вовлечении в иммунологический процесс защитной системы гранулоцитов крови.

3.3 Сравнительная иммуноморфологическая оценка влияния иммуномодулятора тиосульфата натрия на иммунитет у морских свинок, привитых вакцинами из штаммов V. abortus 82- Tr и 82

По результатам проведённой иммуноморфологической оценки влияния иммуномодулятора на иммунитет животных, привитых штаммом 82-Tr, можно судить о положительном воздействии его на иммуноморфологическую перестройку организма. Об этом свидетельствуют более интенсивные иммуноморфологические изменения в испытуемой группе, по сравнению с группой животных, вакцинированных без тиосульфата натрия. В лимфоидных органах у животных этой группы отмечалось более выраженное расширение светлых центров, с повышением количества митотически делящихся клеток, усиленная пролиферация лимфоцитов, инфильтрация селезеночных тяжей зрелыми клетками плазмочитарного ряда, усиление макрофагальной и плазмочелочной реакций красной пульпы, гиперплазия мягкотных тяжей в лимфоузлах. В паренхиматозных органах иммуноморфологическая перестройка также была отражена более яркими изменениями, характерными для вакцинного процесса, чем при иммунизации штаммом 82-Tr без иммуномодулятора.

При оценке влияния тиосульфата натрия на клеточное звено иммунитета были анализированы результаты содержания в крови морских свинок Т и В лимфоцитов. Из этих результатов видно, что количество Т, Th, Ts и В лимфоцитов возрастает на 4-6%, при вакцинации с иммуномодулятором по сравнению с вакцинацией без него. Это свидетельствует о более сильной стимуляции клеточного звена иммунитета вакциной с иммуномодулятором.

Ещё одним показателем влияния вакцинации с применением иммуномодулятора на клеточное звено иммунитета являются результаты РБТЛ. Количество бластов при применении иммуномодулятора возрастало в 4,3 раза по сравнению с интактными и в 1,1 раза по сравнению с вакцинацией без него. Количество бластоподобных при применении тиосульфата натрия превысило показатели интактных в 3,3 раза, но по сравнению с вакцинированными без него снизилось на 5%. Число лимфоцитов было ниже, чем у интактных 2,5 раза. Из этих данных видно, что иммунизация с иммуномодулирующим препаратом вызывает более сильную стимуляцию процессов трансформации лимфоцитов в бластные формы, а значит, сопровождается активным включением клеточных механизмов иммунитета.

3.4 Морфологические и цитохимические изменения при изучении иммуногенных свойств живой вакцины из штамма B.abortus 82-Sr

Проведенные исследования по изучению иммуногенных качеств вакцины из штамма 82-Sr показали, что иммуноморфологические изменения в селезёнке и лимфоузлах проявлялись в виде лимфоидно-гиперпластических, плазмочелочных и макрофагальных реакций, формирования крупных вторичных лимфатических фолликулов со светлыми центрами, гомогенизирования и мукоидного набухания стенок центральных артерий фолликулов. Расширения венозных синусов, содержащих некоторое

количество белково-отечной массы, среди которой можно было видеть клетки лимфоцитарно-плазматического ряда и макрофаги, загруженные гемосидерином. Обильного инфильтрации селезеночных тяжей и мягкотных шнуров лимфоузлов пиронинофильными плазматическими клетками, в основном зрелыми их формами.

В паренхиматозных органах отмечали выраженную плазморрагию, утолщение стенок артерий за счёт мукоидного набухания, пролиферацию их эндотелия, а также клеток ретикуло-гистиоцитарной системы, местами формированием компактных лимфофолликулов. После ревакцинации этим же штаммом иммуноморфологические изменения были в основном однотипными, но отличались более интенсивным проявлением. При исследовании иммуноморфологических изменений у животных иммунизированных антибиотико-резистентным штаммом нами не было обнаружено образование специфических эпителиоидно-клеточных гранулём. Это свидетельствует о низкой вирулентности штамма 82-Sr, а так же быстрой переработке его макрофагами. Остальные изменения характерны для активной иммунологической реакции организма на введение полноценного антигена.

Результаты определения бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) показали, что процент бластных и бластоподобных клеток был значительно выше, чем у интактных животных, как при вакцинации, так и при ревакцинации и составил бластов $37 \pm 0,6$ и $41 \pm 2,1$ %, соответственно, бластоподобных $31 \pm 1,4$ % и $30 \pm 1,4$ %. Показатели лимфоцитов в свою очередь были ниже в 1,9 и 2,8 раза соответственно. Что свидетельствовало о стимуляции клеточного звена иммунитета.

Ещё одним показателем включения механизмов клеточного иммунитета являются результаты определения Т и В лимфоцитов, которые в группах животных привитых штаммом 82-Sr возросли в 2-3 раза по сравнению с интактными, и составили у Т лимфоцитов – $26 \pm 1,4$ %, Th – $16 \pm 1,4$, Ts – $30,5 \pm 2,1$ и В лимфоцитов – $28,5 \pm 2,1$ %. А при ревакцинации их превышение было у Т и Th лимфоцитов до $31,5 \pm 2,1$ и $22 \pm 2,8$ % соответственно, а у Ts и В лимфоцитов до $27 \pm 1,4$ и $26 \pm 1,6$ % соответственно, при показателях у интактных Т клеток – $12 \pm 0,8$ %, Th – $8 \pm 1,4$, Ts – $10 \pm 0,6$ и В – $13 \pm 0,8$ %.

Иммуногенные свойства штамма 82-Sr подтверждаются и в определении динамики лизосомально-катионных белков (ЛКБ) и их среднего цитохимического показателя (СЦП). Результаты этих исследований демонстрировали значительное повышение показателей КБ и СЦП в гранулоцитах лимфоидных органов, которые составили в селезёнке $1,72 \pm 0,03$ и $2,98 \pm 0,08$, а в лимфатическом узле $1,66 \pm 0,04$ и $2,74 \pm 0,03$ соответственно. Что свидетельствует о достаточно высоких иммуногенных качествах этого штамма, способного индуцировать в процесс иммуногенеза широкий арсенал механизмов естественной защиты. Таким образом, антибиотико-резистентные вакцины из штаммов 82-Tr и 82-Sr хорошо приживаются в организме подопытных животных, вызывают обратимые

иммуноморфологические изменения и создают стабильный иммунитет к заражению вирулентной культурой бруцелл.

При изучении биохимических свойств крови животных, привитых штаммом 82-Sr, отмечено первоначальное повышение сывороточных трансаминаз ALT в 1,45 раза, а AST – в 1,1 раза. Однако после ревакцинации этим же штаммом показатели ALT и AST снизились. Эти данные характеризуют состояние синтеза защитных белков организма, а их снижение указывает на отсутствие серьёзных структурно-функциональных нарушений со стороны внутренних органов и прежде всего печени и миокарда.

По количественным параметрам общего белка видно, что его количество было высоким. Это свидетельствует о безвредности препарата и хорошей иммунологической перестройке в организме животных, вакцинированных штаммом 82-Sr.

Результаты исследования основных метаболитов, участвующих в белковом обмене веществ, указывают на то, что вакцинный процесс охватывает организм в целом, в том числе и перестраивая обменные процессы.

3.5 Изучение стабильности штамма *B. abortus* 82-Sr при его последовательных пассажах через организм морских свинок и искусственные питательные среды

Об эффективности биопрепаратов можно судить лишь на основании их комплексного изучения, включающего в себя не только определения качества препарата и влияния его на организм животных, но стабильности свойств культуры штамма. В связи с этим нами были изучены и проанализированы результаты последовательного 10-ти кратного пассажа через организм морских свинок штамма 82-Sr. При анализе результатов выявили, что вакцинация при первом пассаже, привела к достаточно выраженной иммуноморфологической перестройке организма. Так в лимфоидных органах отмечали характерные изменения в виде формирования вторичных фолликулов, образования светлых центров фолликулов, содержащих обогащённые РНК ретикулярные клетки, селезёночные тяжи и мягкотные шнуры мозгового вещества лимфоузлов инфильтрировались клетками лимфоидно-плазмочитарного ряда. В тимусе отмечали хорошо проявляющуюся зональность классов лимфоцитов, наружный слой коркового вещества состоял из лимфобластов, ближе к центру от них располагалась зона средних лимфоцитов. Мозговое вещество состояло из малых лимфоцитов, здесь наблюдался умеренный отёк соединительнотканной стромы и некоторое её разрыхление. В периваскулярных пространствах органа между перипитами и базальной мембраной эпителиальных клеток выявлялась отёчная жидкость, в которой располагались отдельные лимфоциты.

Иммуноморфологическая перестройка в паренхиматозных органах характеризовалась утолщением межальвеолярных перегородок, за счет

активной пролиферации лимфоидно-гистиоцитарных клеток, пролиферацией лимфоидно-гистиоцитарных клеток в периваскулярной и соединительной тканях лёгких, образованием в некоторых участках компактных гранулём, выраженной пролиферацией клеток юкта-гломерулярного аппарата в Мальпигиевых тельцах почек, очаговыми пролифератами, состоящими из лимфоидно-гистиоцитарных клеток вокруг некоторых сосудистых клубочков и периваскулярных пространств. Эти изменения были характерны для пассажей с первого по шестой, с незначительными отличиями. С седьмого по десятый пассажи отмечалось формирование вторичных фолликулов более крупных размеров, в светлых центрах фолликулов выявляли небольшое количество бластных клеток лимфоцитарного ряда. Изменения в остальных органах были схожими с первым пассажем, отличались лишь более ярким проявлением.

Из результатов иммуноморфологической оценки штамма 82-Sr видно, что при введении его в организм животных он вызывает характерные для вакцинного процесса изменения в органах. А при пассажах через организм морских свинок не только не теряет своих антигенных свойств, а ещё и усиливает, чем и доказывается его стабильность.

По показателям РБТЛ при пассажах, также можно судить как о стабильности вакцинного штамма и о влиянии его на включение клеточного звена иммунитета. Из результатов видно, что показатели бластных и blastоподобных клеток во всех десяти пассажах были выше, чем у интактных животных в десятки раз, а лимфоцитов наоборот ниже в 1,5-2 раза.

При определении уровня количественных показателей Т и В лимфоцитов было отмечено их возрастание после иммунизации в первом пассаже в 2-2,5 раза, последующие десять пассажей показатели держались на таком же уровне. Это свидетельствует о включении в организме иммунологических реакций клеточного звена иммунитета и о стабильности антигенных свойств вакцинного штамма 82-Sr.

Из результатов определения КБ и СЦП в ЛКТ видно, что в селезёнке при первом пассаже КБ было выше в 1,9 раза, а СЦП в 2,1, чем у интактных. В других органах эти показатели были также выше и оставались на высоком уровне до последнего пассажа. Что характеризует степень включения в иммуногенез защитных механизмов организма и сохранение антигенных свойств вакцины.

3.6 Изучение на мелком рогатом скоте морфологических изменений, антигенных и иммуногенных свойств культур бруцелл инактивированных гамма излучением

Результаты исследований антигенных и иммуногенных свойств культур бруцелл, инактивированных гамма излучением дают не однозначную иммуноморфологическую картину. При иммунизации 86-γ инактивированным штаммом бруцелл с последующим заражением, в

лимфоидных органах были выявлены фолликулы с базофильно окрашенными центрами, увеличение относительной площади красной пульпы, утолщение артерий трабекул и наличие в них периваскулярных отеков, сдавливание краевых синусов лимфоузлов гиперплазированной лимфоидной тканью, в мозговых синусах отмечали наличие белково-отечной жидкости, умеренную гиперплазию мягкотных тяжей, содержащих зрелые клетки плазмоцитарного ряда. В паренхиматозных органах в печени отмечали отек синусоидных пространств, зернистую и вакуольную дистрофию гепатоцитов, в легких продуктивный васкулит с явлениями фибротизации, мукоидное набухание стенок сосудов, очаговую пролиферацию лимфоидно-гистиоцитарных клеток межальвеолярной соединительной ткани, в почках зернистую дистрофию канальцев, очаговую пролиферацию лимфоидно-макрофагальных клеток в интерстиции, в миокарде зернистую и вакуольную дистрофию кардиомиоцитов. Таким образом, выше перечисленные иммуноморфологические изменения указывают на слабое течение вакцинного процесса в организме вакцинированных животных.

Результаты, полученные при применении этих же штаммов бруцелл, но с иммуномодулятором показывают усиление иммуноморфологической перестройки организма и характеризуются в лимфоидных органах появлением вторичных фолликулов со светлыми центрами, имеющих крупные размеры, густо расположенными по периферии фолликулов клеток плазмоцитарного ряда богатых РНК. Стенки артериол и венул были утолщены за счет их мукоидного набухания и плазматического пропитывания. В паренхиматозных органах: отмечали расширение синусоидных пространств и лимфоидные пролиферации в печени, в легких картина хронической альвеолярной эмфиземы и более сильная пролиферация лимфоидно-макрофагальных клеток.

При анализе результатов применения на мелком рогатом скоте живого вакцинного штамма 82, были установлены стереотипные иммуноморфологические изменения, отражающие гиперпластические процессы лимфоидной системы у привитых животных, которые в основном были сходными с теми, которые нами были описаны в опытах на лабораторных животных.

Исследования иммуноморфологических изменений при иммунизации овец живым вакцинным штаммом 19 были получены данные сходные с результатами штамма 82. Однако морфологическая, картина при этом проявлялась более рельефно и стабильно.

Определение уровня Т и В лимфоцитов при вакцинации γ -инактивированными штаммами бруцелл показало, что количество Т-лимфоцитов в 1-м месяце при применении 86- γ -инактивированного штамма было незначительно выше (на 0,8 %), а при 82- γ – ниже на 1,9 % и составило $16,1 \pm 0,2\%$ и $13,2 \pm 0,7\%$, соответственно. В остальные месяцы показатели стали выше в среднем на 4%, и достигали максимального значения $20,3 \pm 1,2\%$ и $19,7 \pm 0,6\%$, соответственно, после заражения вирулентной культурой. Тh и

Ts лимфоциты в первом месяце были равны $17 \pm 1,6\%$ и $14,7 \pm 1,8\%$ соответственно, в последующие сроки показатели повысились лишь на 1-2 % по сравнению с интактными. Повышение количества В-лимфоцитов за период опыта колебалось от 1 до 7 %. Эти результаты говорят о слабом воздействии убитых штаммов бруцелл на клеточное звено иммунитета.

Применение иммуномодуляторов с этими штаммами бруцелл привело к увеличению в среднем Т-лимфоцитов на 8%; Th – 4%; Ts – 7%; В на 11 %, что свидетельствует о более сильной стимуляции клеточных механизмов иммунитета, чем в группах, привитых без иммуномодулятора.

По результатам РБТЛ также можно судить о клеточном иммунном ответе. Так при применении γ -инактивированных штаммов бруцелл 86 и 82 количество бластных клеток в первый месяц выросло в 2 раза и затем в течение опыта снижалось на 3%, а после заражения вновь повысилось до $26 \pm 0,6$ и $24 \pm 1,4\%$ соответственно,

Применение этих же штаммов, но с тиосульфатом натрия повысило количество бластов в среднем по опыту в 3 раза и составило у 86- γ $30 \pm 1,2$ и у 82- γ $27 \pm 0,6$. Что говорит о более сильном процессе стимуляции трансформации лимфоцитов, чем при иммунизации без иммуностимулирующего препарата.

Результаты определения количественных показателей бластоподобных клеток при применении убитых штаммов 82- γ и 86- γ были в 2 раза выше, чем у интактных и колебались от $22 \pm 1,4$ до $28 \pm 0,8\%$ и от $19 \pm 1,2$ до $27 \pm 0,6\%$, соответственно. А при вакцинации с иммуномодулятором эти показатели возросли в 3,5 раза до максимального уровня $25 \pm 0,2$ и $33 \pm 0,6\%$, соответственно. Количественные показатели лимфоцитов во все сроки опыта были в среднем ниже интактных в 2 раза.

Анализ показателей Т и В лимфоцитов и РБТЛ свидетельствует о незначительной стимуляции клеточного звена иммунитета по сравнению таковой, которую оказывают живые вакцины из штаммов 82 и 19.

Анализ данных биохимических исследований крови баранов вакцинированных γ -инактивированными штаммами бруцелл показал, что ALT в первом месяце снизилось на 6 - 8 У.е. по сравнению с интактными и составило у животных, вакцинированных 86- γ $18,66 \pm 0,29$ У.е., а у иммунизированных убитым 82-м штаммом $16,04 \pm 0,22$ У.е. Дальнейшие исследования через 30 и 60 дней показали увеличение фермента на 1-4%, где было отмечено максимальное увеличение его до $24,85 \pm 0,64$ и $28,3 \pm 0,15$ У.е., соответственно. Через 3 месяца показатели снова понизились на 10-15%. После заражения показатели этого фермента были на уровне $11,3 \pm 0,34$ У.е. у штамма 86 и $15,79 \pm 0,29$ у штамма 82, что в 2,18 раза и 1,6 раза ниже, чем у интактных животных. В группах вакцинированных этими же штаммами с иммуномодулятором показатели в динамике были такими же, но на 1-2% выше, чем в группах без него.

Иммунизация животных живой вакциной из штамма 82, вызывала в сравнении с показателями интактных животных в первый месяц снижение количества ALT, и было на уровне $20,53 \pm 0,16$ У.е. Максимального значения

превышающего показатель интактных овец фермент достиг через 30 дней после иммунизации и стал равен 28.3 ± 0.15 У.е. После заражения показатель ALT снизился до 14.36 ± 0.30 У.е.

При вакцинации овец живым вакцинным штаммом 19 наблюдалась определённая закономерность постепенного возрастания количества ALT с первого месяца и до заражения. Максимального уровня показатель этого фермента достиг после заражения и составил 26.11 ± 0.22 У.е.

Показатели AST в динамике опыта были сходными с ALT и различались только по количественным параметрам фермента. Минимальное значение было отмечено в начальной группе у живого штамма 82 и составило 26.11 ± 0.22 У.е., а максимальный подъём составил 66.0 ± 0.25 у штамма 19 через три месяца исследований.

Из результатов исследования сывороточных трансаминаз видно, что вакцинация влияет на их количество в крови в разные сроки по-разному. Это свидетельствует о не одинаковом производстве защитных белков организмом через определённые сроки после введения вакцины.

Показатели общего белка в организме привитых, как убитыми, так и живыми вакцинами были выше, чем у интактных, что свидетельствует об отсутствии вредного воздействия испытуемых вакцин на организм.

Результаты уровня таких метаболитов, как креатинин, билирубин, мочевина показали всестороннюю оценку активности ферментов, участвующих в орнитиновом цикле белкового обмена веществ. Так, уровень креатинина во все сроки был выше у вакцинированных, чем у интактных, а уровень билирубина был ниже. Количество мочевины в крови иммунизированных находилось на уровне показателей у интактных животных, либо было ниже.

Данные биохимических исследований показывают незначительное изменение со стороны метаболизма, что говорит о безвредности исследуемых вакцин.

Показатели проявления изменений в органах животных заражённых вирулентной культурой без вакцинации характеризовались в селезёнке единичными первичными фолликулами, вторичные были редуцированы. Увеличением соотношения красной пульпы, умеренным количеством клеток плазмоцитарного ряда в селезёночных тяжах, расширенными венозными синусами красной пульпы, огрубением трабекулярного аппарата органа. Формированием в паренхиме органа эпителиоцелочных гранулём с некрозом в центре. Изменения в печени характеризовались явлениями зернистой и вакуольной дистрофии в гепатоцитах, очаговой пролиферацией лимфоидно-макрофагальных клеток по ходу интерстиции, формированием эпителиоцелочных и гигантоцелочных гранулём, с явлениями некроза в их центре. В лёгких межальвеолярные перегородки пролиферировались лимфоидно-гистиоцитарными клетками, с образованием эпителиоцелочных гранулём, так же обнаруживали участки викарной эмфиземы. По результатам исследования морфологических изменений в органах у заражённых

животных можно судить о проявлении у них бруцеллеза, а значит и о стабильности вирулентных штаммов.

4. ВЫВОДЫ

1. Иммунизация экспериментальными противобруцеллёзными антибиотико-резистентными вакцинами из штаммов В. abortus 82- Тг (тетрациклиноустойчивого) и 82- Sr (стрептомициноустойчивого) вызывает в организме морских свинок стереотипные изменения, характеризующие иммуноморфологическую перестройку, проявляющуюся лимфоидно-гиперпластической, макрофагальной и плазмоцитарной реакциями, и обеспечивает защиту от заражения вирулентным штаммом бруцелл.
2. Ревакцинация и сочетанное применение этих вакцинных штаммов с тиосульфатом натрия усиливают процессы иммуноморфогенеза с активным включением в его механизм факторов, как клеточной (рост Т и В лимфоцитов), так и гуморальной защиты, что подтверждается повышением титра антител до 1:80 в РСК с R- антигеном.
3. Реактогенность и побочное действие испытуемых вакцинных препаратов характеризуются проявлением гемодинамических, дистрофических, пролиферативных изменений, свойственных воспалительной реакции, а также умеренной плазморрагии, огрубения ретикулярной стромы органов иммуногенеза, эозинофилией, являющихся морфологической верификацией аллергических изменений, носящих обратимый характер.
4. Инактивированные γ - облучением испытуемые штаммы бруцелл, использованные в качестве прививочных препаратов, оказались менее иммуногенными и вызывали слабо выраженную иммуноморфологическую перестройку иммунной системы организма привитых овец, по сравнению с живыми вакцинами из штаммов В. abortus 82 и 19.
5. Последовательный пассаж вакцинного штамма 82- Sr через организм морских свинок и питательные среды подтверждает стабильность антигенных его свойств и заметно снижает алергизирующий эффект воздействия на организм.
6. Применение антибиотико-резистентных штаммов бруцелл в качестве прививочных препаратов приводило к достоверному увеличению в крови вакцинированных животных количества Т и В лимфоцитов и усилению реакции бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ):
 - при использовании штамма 82-Тг увеличением общего количества Т-клеток в 1,7, Th(хелперов) в 3,9, Ts(супрессоров) в 1,8 и В-лимфоцитов в 1,2 раза;
 - при использовании штамма 82-Sr с увеличением общего количества Т-клеток в 2,1, Th- в 2,0, Ts- в 3,0 и В- лимфоцитов в 2,2 раза по сравнению с показателями интактных животных;
 - при применении инактивированных γ - облучением штаммов бруцелл эти показатели повышались недостоверно.

Показатели РБТЛ по бластным клеткам повышались при иммунизации:

- штаммом 82- Tr в 4,0 раза;
- штаммом 82- Sr в 3,6 раза;
- штаммами, инактивированными γ - облучением, в 2,3 раза.

7. Цитохимическими исследованиями у привитых антибиотико-резистентными штаммами бруцелл животных установлено достоверное повышение уровня лизосомальных катионных белков (ЛКТ) в гранулоцитах и среднего цитохимического показателя (СЦП). Что позволяет судить о повышении уровня естественной резистентности у привитых животных.

8. Биохимическими исследованиями сыворотки крови у привитых животных установлены изменения показателей с тенденцией повышения количества общего белка, глюкозы, креатинина, мочевины и понижения ALT (аланинаминотрансферазы), AST (аспартатаминотрансферазы) и билирубина. Что свидетельствует об отсутствии существенных изменений метаболического клиренса в организме и может служить дополнительным доказательством безвредности испытуемых вакцин.

5. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Разработаны методические указания по применению живой вакцины из антибиотико-резистентного штамма B. abortus 82-Sr для экстренной защиты лабораторных животных от бруцеллёза.
2. Разработаны методические указания по дифференциации культур бруцелл штамма 82-Sr от культур вирулентных штаммов и вакцинного штамма 82.
3. Штамм Brucella abortus 82-Sr депонирован 17.04.09 в музее штаммов возбудителей инфекционных болезней ФГУ ФЦТРБ паспорт № 242.
4. Результаты диссертационных исследований используются в учебном процессе при чтении лекций, проведении практических занятий в ФГОУ ВПО «КГАВМ имени Н.Э. Баумана, ФГОУ ВПО «Пермская ГСХА», ФГОУ ВПО «Нижегородская ГСХА» и при научных изыскательных работах ФГУ «ФЦТРБ-ВНИВИ».

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Свинцов, Р.А. Усовершенствование диагностики хламидиоза / Р.А. Свинцов, А.Ф. Авзалова // Сборник материалов республиканского конкурса науч. работ студентов на соискание премии им.Н.И. Лобачевского. – Казань , 2006. –С. 26-27.
2. Свинцов, Р.А. Иммуногенные свойства вакцины из штамма 82-Tr при вакцинации и ревакцинации морских свинок /Р.А. Свинцов, Н.Ю. Федорова, А.М. Фомин, Ф.З. Авзалов, Г.М. Сафина // Всероссийская научно-практическая конференция. - Казань , 2007. – С. 40-41.

3. Свинцов, Р.А. Иммуноморфология иммунного процесса у лабораторных животных при применении антибиотикорезистентного варианта противобруцеллезной вакцины из штамма 82 / Р.А. Свинцов, Н.Ю. Федорова, А.М. Фомин, Ф.З. Авзалов, // Всероссийская научно-практическая конференция. - Казань, 2007. - С. 89-91.

4. Свинцов, Р.А. Изучение влияния тиосульфата натрия на иммунитет у морских свинок, привитых вакциной из штамма В. abortus 82-Sr / Р.А. Свинцов, Г.М. Галимова, А.А. Иванов, А.М. Фомин, Ф.З. Авзалов // 16-я Всероссийская научно-методическая конференция по патологической анатомии животных. - Ставрополь, 2007. - С. 50-54.

5. Свинцов, Р.А. Морфологическая перестройка лимфоидных органов морских свинок при применении противобруцеллезной вакцины из штамма 82- Тг /Р.А. Свинцов, Ф.З. Авзалов, А.М. Фомин // Всероссийская научно-практическая конференция, посвящённая 75 летию Дагестанской государственной сельскохозяйственной академии. - Махачкала, 2007. - С. 250-251.

6. Свинцов, Р.А. Действие иммуномодулятора на иммуногенез у морских свинок, привитых противобруцеллезными вакцинами / Р.А. Свинцов, А.Ф. Авзалова // 9-я Международная научно-практическая конференция молодых учёных и специалистов. - Троицк, 2007. - С. 59-61.

7. Свинцов, Р.А. Иммуногенность живой вакцины из штамма 82-Sr при вакцинации и ревакцинации морских свинок / Р.А. Свинцов, К.М. Салмаков, А.М. Фомин, Р.А. Крючков // Ветеринарный врач. - №4. - 2007. - С. 25-27.

8. Свинцов, Р.А. Разработка и комплексное изучение новых антибиотико-резистентных вакцинных штаммов для специфической профилактики бруцеллёза жвачных животных / Р.А. Свинцов // Материалы Всероссийского конкурса по ПФО на лучшую научную работу среди аспирантов и молодых учёных. - Казань, 2008. - С. 26.

9. Свинцов, Р.А. Применение реакции бластотрансформации лимфоцитов для изучения стабильности антигенных свойств штамма бруцелл 82- Sr при пассаже через организм морских свинок / Р.А. Свинцов, Ф.З. Авзалов, А.М. Фомин, Р.А. Крючков // Учёные записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана. Т-192. - Казань, 2008. - С. 143-147.

10. Свинцов, Р.А. Определение стабильности антигенных качеств антибиотикоустойчивых вакцинных штаммов бруцелл при пассаже через организм лабораторных животных с помощью серологических и иммунологических тестов / Р.А. Свинцов, А.Ф. Авзалова, Р.А. Крючков // Международная конференция молодых учёных и аспирантов «Молодые учёные агропромышленному комплексу» посвящённая 90-летию Горского государственного аграрного университета. 21-22 октября 2008г. - Горск, 2008. - С. 72-74.

*Отпечатано в ООО «Печатный двор».
г. Казань, ул. Журналистов, 1/16, оф.207
Тел: 272-74-59, 541-76-41, 541-76-51.
Лицензия ПД №7-0215 от 01.11.2001 г.
Выдана Поволжским межрегиональным
территориальным управлением МПТР РФ.
Подписано в печать 19.11.2009г. Усл. п.л 1,3
Заказ № К-6742. Тираж 100 экз. Формат 60х84 1/16.
Бумага офсетная. Печать - ризография.*