

~
:

На правах рукописи

АММОСОВ Григорий Гаврилович

**ИЗУЧЕНИЕ АНТИГЕННЫХ И ИММУНОГЕННЫХ СВОЙСТВ
ВАКЦИНЫ ИЗ ШТАММА BRUCELLA ABORTUS 75/79 – АВ
В ОРГАНИЗМЕ СЕВЕРНЫХ ОЛЕНЕЙ**

Специальность 16.00.03 – Ветеринарная микробиология, вирусология,
эпизоотология, микология с микотоксинологией и иммунология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Якутск – 2006

Работа выполнена в Государственном научном учреждении Якутского научно-исследовательского института сельского хозяйства Сибирского отделения Российской академии сельскохозяйственных наук, на кафедре паразитологии и эпизоотологии факультета ветеринарной медицины Якутской государственной сельскохозяйственной академии и в оленеводческих хозяйствах фактории «Томпо» Томпонского улуса Республики Саха (Якутия).

Научный руководитель – доктор ветеринарных наук, старший научный сотрудник, Слепцов Евгений Семёнович

Научный консультант – доктор ветеринарных наук, профессор Никифоров Иван Перфильевич

Официальные оппоненты:

- Доктор ветеринарных наук, профессор Сердцев Геннадий Павлович
- Кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник Васильева Августа Алексеевна

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

Защита диссертации состоится «30» мая 2006 года на заседании диссертационного совета К 220.071.01 при ФГОУ ВПО Якутская государственная сельскохозяйственная академия по адресу: 677007, г.Якутск, ул.Красильникова, 15

Факс: (4112) 35-78-13

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО Якутская государственная сельскохозяйственная академия

Автореферат разослан 30 апреля 2006 г.

Учёный секретарь диссертационного совета,
доцент



В.Ф.Бутковский

2006 А
9950

Актуальность темы. Бруцеллёз сельскохозяйственных животных является одной из основных проблем ветеринарной науки и практики, актуальность которой определяется, прежде всего, опасностью для здоровья человека, а также широкой распространенностью заболевания.

По данным Комитета экспертов по бруцеллёзу ФАО/ВОЗ (6-й доклад, 1986) инфекция регистрируется среди крупного рогатого скота, овец и коз в 155 странах мира всех континентов.

Бруцеллёз северных оленей на Крайнем Севере Российской Федерации также имеет широкое распространение и является значительным сдерживающим фактором дальнейшего развития оленеводства и продолжает представлять серьёзную социальную опасность.

Многолетний опыт борьбы с бруцеллёзом северных оленей путем проведения общих организационно-хозяйственных и ветеринарно-санитарных мероприятий показал на их недостаточную эффективность.

Борьба с болезнью осложняется наличием природных очагов бруцеллёза диких оленей.

Рядом исследователей Якутии, Таймыра, Ямала и Магаданской области (В.А.Забродин, 1956, 1959, 1983, М.И.Рудаков, 1956, И.М.Голосов, 1956, 1963, А.Ф.Пинигин с соавтор., 1960, Н.Н.Давыдов, 1961, 1963, 1967, А.В.Лысков, 1976, 1981, Р.Б.Вашкевич, 1969, 1989, R.Dieterich, 1987, 1989, Р.М.Искахов, 1988, К.А.Лайшев, 1990, 1998, А.А.Хоч, 1966, Е.С.Слепцов, 1999, А.А.Васильева, 2001, Л.Т.Дьячковский, 2004 и др.) было проведено изучение степени распространения, способов диагностики, средств и методов специфической профилактики бруцеллёза северных оленей.

Наибольший практический интерес вызвали живые агглютиногенные вакцины. Опыт применения в оленеводстве вакцин из штаммов Br.abortus 19 и 82 показал, что эти вакцины являются безвредными и высокоиммуногенными.

Вместе с тем, по ряду известных причин (повышенная реактогенность, длительная персистенция антител в крови, трудоемкая технология и др.) их

РОС. НАЦИОНАЛЬНАЯ
БИБЛИОТЕКА
САНКТ-ПЕТЕРБУРГ
05.06.2006 398

использование до настоящего времени не вышло из рамок производственных испытаний в масштабах отдельных хозяйств, несмотря на то, что эти вакцины создают предпосылки к оздоровлению неблагополучных стад в течение 2-5 лет.

Кроме того, исходя из современных требований предъявляемых к средствам специфической профилактики, очевидной остается и необходимость поиска новых, более совершенных противобруцеллёзных вакцин.

Одной из таких вакцин является вакцина из штамма Br.abortus 75/79-AB, которая была селекционирована и комплексно изучена в экспериментальных и производственных условиях И.П.Никифоровым (1996) на крупном рогатом скоте.

При этом было установлено, что новый слабоагглютиногенный штамм Br.abortus 75/79-AB по ряду своих свойств (культуральные, морфологические, биохимические и агглютинабельные) аналогичен вакцинному штамму Br.abortus 82, но выгодно отличается по таким принципиальным свойствам, как реактогенность, абортотенность, остаточная вирулентность, стабильность, приживаемость и антигенность.

Вместе с тем, штамм Br.abortus 75/79-AB обладает иммуногенностью, в эксперименте на крупном рогатом скоте равной вакцинному штамму 82, а на морских свинках превышает 23 процента.

В то же время исходный штамм Br.abortus 75/79-AB не обладал в эксперименте на морских свинках и крупном рогатом скоте, а также в контролируемом производственном опыте абортотенными свойствами.

На основании проведенных исследований штамм был рекомендован для широкого производственного испытания в ряде областей Российской Федерации в целях повышения эффективности противобруцеллёзных мероприятий.

Апробация вакцины из штамма Br.abortus 75/79-AB в производственных условиях показала, что применение ее в общем комплексе

противобруцеллёзных мероприятий позволяет резко ослабить напряжённость эпизоотического процесса и в течение 12-18 месяцев добиться ликвидации эпизоотических очагов бруцеллёза крупного рогатого скота.

Все это позволило считать работу с данной вакциной весьма перспективной и рекомендовать для испытания при бруцеллёзе северных оленей. С учётом этого нами были поставлены следующие цели и задачи исследования:

Цель работы - изучение реактогенных, антигенных и иммуногенных свойств нового слабоагглютиногенного вакцинного штамма Br.abortus 75/79-AB в опытах на северных оленях и определение её пригодности при бруцеллёзе северных оленей.

При этом были поставлены следующие задачи:

- изучить реактогенные и abortогенные свойства штамма Br.abortus 75/79-AB при бруцеллёзе северных оленей;
- определить приживаемость, расселяемость и возможность миграции штамма Br.abortus 75/79-AB в организме северных оленей;
- отработать оптимальную иммунизирующую дозу слабоагглютиногенного штамма Br.abortus 75/79-AB для северных оленей;
- изучить динамику антител в сыворотке крови после иммунизации вакцинным штаммом Br.abortus 75/79-AB и степень проявления аллергической реакции в различные сроки после вакцинации;
- определить иммуногенность вакцины из штамма Br.abortus 75/79-AB в зависимости от дозы её введения.

Научная новизна. Впервые изучены реактогенные, антигенные и вирулентные свойства вакцины из штамма Br.abortus 75/79-AB на северных оленях.

В строго контролируемом опыте показана более низкая реактогенность вакцины из штамма Br.abortus 75/79-AB, чем при применении вакцины из штамма Br.abortus 82.

Установлена оптимальная иммунизирующая доза вакцины из штамма Br.abortus 75/79-AB в 50 млрд.м.к.

Впервые изучена динамика специфических антител в сыворотке крови северных оленей в зависимости от дозы введения вакцины из штамма Br.abortus 75/79-AB.

Практическая ценность. Изучены антигенные и иммуногенные свойства и определена оптимальная доза введения вакцины из штамма Br.abortus 75/79-AB. Полученные данные создают возможность в последующем установить эффективность вакцины с целью создания высокого иммунного фона в оленьих стадах и ослабления отрицательного влияния природных очагов инфекции на эпизоотическую обстановку по бруцеллёзу и за счет этого получить противозооотический, экономический и социальный эффект.

Полученные данные открывают перспективу для разработки эффективных схем профилактики и ликвидации бруцеллёза северных оленей.

Защищаемые положения:

- результаты изучения реактогенных и абортотических свойств штамма Br.abortus 75/79-AB при бруцеллёзе северных оленей;

- материалы по изучению динамики специфических антител в сыворотке крови северных оленей в зависимости от дозы введения вакцины из штамма Br.abortus 75/79-AB;

- оптимальная иммунизирующая доза вакцины из штамма Br.abortus 75/79-AB.

Работа выполнена в рамках плана НИОКР ГНУ ЯНИИСХ СО РАСХН по теме 08.01.:»Научно обосновать и оптимизировать средства и методы специфической профилактики и диагностики бруцеллёза северных оленей, отработать технологию их применения» от 12 ноября 2001 года, протокол Учёного Совета 14.

Апробация работы. Основные материалы диссертационной работы представлены и обсуждены:

- на ежегодных отчетах ГНУ ЯНИИСХ СО РАСХН с 2001-2005 гг.;
- на VI республиканской научно-практической конференции по мерам реализации Президентской программы социально-экономического развития села на период до 2006 года (15 апреля 2003 год, г.Якутск);
- научно-практической конференции III Конгресса оленеводов мира (18-20 марта, 2005 год).

Публикации результатов исследований. По материалам диссертации опубликованы 4 статьи и 1 методическая рекомендация, для специалистов, работающих в оленеводческих хозяйствах страны.

Личный вклад автора в представленной работе складывается из непосредственного участия в выборе направления научного поиска, разработки плана и задач исследований, самостоятельного выполнения экспериментальных опытов, а также из обоснования выводов полученных результатов.

1.8. Объём и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических предложений и приложения.

Диссертация изложена на 126 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 16 таблицами и 4 рисунками. Список литературы состоит из 214 авторов, из них 91 иностранных

Глава 1

Современное состояние и перспективы изыскания новых средств и методов иммунопрофилактики бруцеллёза в России

Глава посвящена проблемам эпизоотологии бруцеллёза северных оленей, иммунопрофилактике и изысканию средств и методов специфической профилактики при бруцеллёзе северных оленей.

ГЛАВА 2

Материалы и методы исследований

Работа выполнялась в период с 2000 по 2005 гг. в лаборатории бруцеллёза и туберкулёза животных ГНУ Якутский НИИ сельского хозяйства СО РАСХН, на кафедре паразитологии и эпизоотологии факультета ветеринарной медицины Якутской государственной сельскохозяйственной академии, в РВИЛ Томпонского района, а также в оленеводческих стадах фактории «Томпо» Томпонского улуса Республики Саха (Якутия).

Ретроспективную оценку эпизоотической ситуации по бруцеллёзу оленей, а также изучение эффективности выполняемых противобруцеллёзных мероприятий проводили на основании анализа эпизоотологических данных за период с 1984 по 2005 гг.

Источниками информации по основным показателям эпизоотологического процесса (динамика неблагополучных пунктов, заболеваемость, иммунизация вакцинами из штаммов Br.abortus 19 и 82), служили данные Департамента ветеринарии при МСХ Республики Саха (Якутия), а дополнительными (методы, способы, схемы иммунизации, структура неблагополучных очагов, аборт, результаты бактериологического исследования и др.) – первичные документы ветеринарного учёта и отчётности, а также собственные материалы эпизоотологического обследования оленеводческих хозяйств Республики Саха.

Ряд исследований проведены совместно с Е.С.Слепцовым, Л.Т.Дьячковским и И.П.Никифоровым, которым автор приносит свою искреннюю благодарность за оказанную помощь и сотрудничество.

Изучение культурально-морфологических, тинкториальных, агглютинабельных и других свойств культур проводили по методикам, рекомендованных Комитетом экспертов по бруцеллёзу ФАО/ВОЗ (6-й доклад, 1986).

Опыт I на 40 северных оленях фактории «Томпо» были изучены реактогенные и абортотенные свойства вакцины из штамма Vg.abortus 75/79-AB, у которых определяли местную и общую реакцию организма в ответ на введение вакцины.

На этих же подопытных животных определяли уровень специфических антител в сыворотке крови в зависимости от дозы введения вакцины.

При исследовании сыворотки крови животных применяли РБП, РА и РСК. Гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ) изучали путём постановки пальцебразной аллергической пробы с бруцеллином ВИЭВ.

После иммунизации в течение 2-х недель определяли местную и общую реакции организма северных оленей на введение вакцины путём наблюдения за общим состоянием организма северных оленей.

Опыт II по изучению приживаемости, расселяемости и миграции вакцинного штамма Vg.abortus 75/79-AB был проведен в октябре-ноябре 2001 года в стаде № 6 Фактории «Томпо» Томпонского района Республики Саха (Якутия).

Для этой цели были отобраны 27 взрослых северных оленей одинакового возраста и привиты по следующей схеме.

Взвесь бруцелл вводили подкожно в объёме 5 мл в области средней трети шеи. Забор крови для серологического исследования был проведен на 15, 75 и 90 дни после иммунизации. Контрольный убой был проведен в эти же сроки по 3 животных в каждой группе.

Опыт III был заложен в марте 2002 года в стаде № 6 фактории «Томпо» Томпонского района. В опыт было взято 129 важенок во второй половине стельности. Подопытные животные были подразделены на 3 группы и привиты в дозах 100, 50 и 25 млрд.м.к.

Опыт IV проведена в благополучном по бруцеллёзу стаде №11 Фактории «Томпо» были определены иммуногенные свойства вакцины из штамма Br.abortus 75/79-AB при разных дозах ее введения.

В опыте было использовано 36 северных оленей. Подопытных животных распределили на 3 группы по 9 животных в каждой и иммунизировали вышеуказанной вакциной.

Четвёртую группу составил непривитый контроль. Гуморальный иммунный ответ изучали в динамике через 7, 15, 30,60, 90 и 150 дней после введения вакцины путём определения специфических антител в Розбенгал пробе (РБП), реакции агглютинации (РА) и реакции длительного связывания комплемента (РДСК).

С целью изучения состояния иммунитета через 5 месяцев после иммунизации у 12 животных, в т.ч. и контрольных, провели контрольное заражение культурой референтного штамма Br.suis 1330 в дозе 25 млн.м.к. по оптическому стандарту мутности ГИСК им.Л.А.Тарасевича, что составляет 10 минимальных инфицирующих доз.

Заражение проводили дозирующим устройством «Эппендорф» по 0,05 мл на конъюнктиву глаза.

Иммунологические исследования на бруцеллёз проводили через 15 и 30 дней, а убой вакцинированных и контрольных животных для бактериологического исследования провели через 30 дней после заражения.

Высевы из лимфатических узлов и паренхиматозных органов (15-18 объектов от каждого животного) были проведены на одну пробирку с мясо-пептонным печеночным бульоном (МППБ) и две пробирки с мясо-пептонно-печеночным глюкозо-глицериновым агаром (МППГА) с каждой пробы.

Высевы проводили стерильной пастеровской пипеткой после предварительного прижигания места укола патологического материала разогретым на пламени спиртовки шпателем.

Пробирки с засеянным материалом инкубировали в термостате при 37°C до 30 суток с периодическим просмотром характера роста культур.

Полученный цифровой материал был обобщен и представлен в таблицах.

Достоверность средних показателей варьирующих признаков определяли по критерию Стьюдента. Статистическую обработку проводили по методике Ю.К.Баюна (1989).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Эпизоотология бруцеллеза северных оленей в Якутии

В Якутии бруцеллез северных оленей впервые был установлен в 1955 году в Оймяконском районе. В последующие годы он получил значительное распространение, что в условиях рынка является серьезным препятствием на пути повышения уровня экономического развития многих неблагополучных по бруцеллезу оленеводческих хозяйств.

Таблица 1 Количество неблагополучных пунктов по бруцеллёзу северных оленей на 01.12. 2005 г.

№	Улусы	Количество небл./пунктов	Населенные пункты
1	Жиганский	2	Баханай Кыстатым
2	Момский	2	Сасыр Победа
3	Нижнеколымский	2	Андрюшкино Кольмское
4	Оленекский	2	Жилинда Харыялах
5	Среднеколымский	1	Березовка
6	Усть-Янский	2	Казачье Тумат
7	Эвено-Бытантайский	3	Джаргалах Кустур Ленинское
	Итого	14	

В данное время заболеваемость бруцеллезом у оленей в целом по республике составляет 0,57 %, что по сравнению с прошлым годом в 1,8 раз ниже, в то же время в отдельных стадах Момского улуса достигает 8,9 %. В последнее время единичные реагирующие без бактериологического подтверждения на бруцеллез выявляются в оленеводческих стадах Абыйского, Анабарского и Среднеколымского улусов.

В 1995 г. Департаментом ветеринарии были внедрены РИД-диагностика и поголовная иммунизация оленей против бруцеллеза в Булунском и Нижнеколымском улусах, а в 2000 г. в схему оздоровления была введена иммунизация молодняка текущего года рождения в Жиганском, Момском, Оленекском, Томпонском, Усть-Янском и Эвено-Бытантайском улусах. При этом оздоровительная работа велась только ветеринарной службой без участия муниципальных образований и УСХ.

С 2003 г. по инициативе отдельных руководителей оленеводческих хозяйств началась поэтапная постадная оздоровительная работа в Верхнеколымском, Жиганском, Момском, Нижнеколымском, Томпонском, Усть-Янском и Эвено-Бытантайском улусах. В данных улусах были

разработаны комплексные организационно-хозяйственные, ветеринарно-санитарные мероприятия с указанием конкретных сроков оздоровления стад от бруцеллеза. Со стороны Департамента ветеринарии оздоравливаемые стада были обеспечены всеми необходимыми диагностическими средствами, биопрепаратами, лабораторным оборудованием, ушными бирками для метки исследованных оленей, доставка специалистов в стада, ремонт коралей, снабжение электроэнергией. В результате проведенной работы с 2000 по 2005 гг. были оздоровлены от бруцеллеза Булунский, Верхнеколымский, Кобяйский, Томпонский улусы, постадное оздоровление началось в Жиганском, Оленекском, Усть-Янском и Эвено-Бытантайском улусах.

3.2. Изучение реактогенных свойств вакцины из штамма Br.abortus 75/79-AB в опыте на северных оленях

Из литературных данных известно, что живые вакцины до настоящего времени не нашли широкого применения для профилактики и борьбы с бруцеллезом северных оленей. Основные недостатки ранее предложенных вакцин (штамм Br.abortus 19, Br.suis 61) те, что они обладают высокой реактогенностью и, нередко, вызывают осложнения в виде припухлостей и абсцессов на месте введения препарата, хромоты, вызванных поражением суставов передних и задних конечностей (тендовагиниты, бурситы и другие).

Из известных вакцин, только вакцина из штамма Br.abortus 82 нашла более или менее широкое применение при специфической профилактике бруцеллеза северных оленей.

Результаты ее применения в Республике Саха (Якутия) являются достаточно эффективными, но отдельные серии данной вакцины обладают повышенной abortогенностью. В связи с этим возникла необходимость установить иммунологическую реактивность вакцинного штамма Br.abortus 75/79-AB для северных оленей.

В I-ом опыте на 40 северных оленях всех половозрастных групп нами были изучены реактогенные свойства вакцины из штамма Br.abortus 75/79-AB.

После иммунизации в течение 2-х недель определяли общую и местную реакцию организма северных оленей на введение вакцины путем наблюдения за общим состоянием, измерения температуры тела, определения консистенции и размеров воспалительного отека в области инокуляции вакцины.

При учете реакции через 24 часа после подкожного введения вакцины на месте инокуляции отмечали умеренно выраженную припухлость, плотной и горячей на ощупь консистенции.

В последующем развивался отек, достигающих максимальных размеров на 7 день после иммунизации.

При этом у оленей привитых дозами в 25 и 50 млрд.м.к. существенной разницы размеров отека не отмечали (размер отека соответственно составлял $22,1 \pm 1,7$ и $25,0 \pm 1,5$ мм., $P < 0,05$).

В то же время, доза в 100 млрд.м.к. вызывает отек более разлитой и его размер достигает до $31,1 \pm 1,9$ мм ($P < 0,05$).

При учете в последующие сутки размеры отека снижались и на 14 день составили на дозу 25 млрд.м.к. – $20,1 \pm 1,3$; 50 млрд.м.к. – $23,0 \pm 1,1$; и 100 млрд.м.к. – $28,8 \pm 3,0$ мм.

Общая реакция организма оленей не сопровождалась снижением аппетита и угнетенным состоянием.

Таким образом, результаты изучения реактогенных свойств вакцины из штамма Br.abortus 75/79-AB свидетельствуют о том, что показатели физиологического состояния организма при подкожной иммунизации зависят от дозы препарата (реактогенность была менее выражена при введении 25 и 50 млрд.м.к., чем при введении большей дозы – 100 млрд.м.к.), а также данная вакцина обладает менее выраженными реактогенными свойствами, чем вакцина из штамма Br.abortus 82.

Слепцов Е.С. (1999) отмечает, что у животных привитых вакциной из штамма 82 в дозе 50 млрд.м.к. на 7 день размер отека составляет $35,0 \pm 2,0$ мм.

3.3. Изучение приживаемости, расселяемости и миграции вакцинного штамма Br.abortus 75/79-AB в организме северных оленей

Во II-ом опыте были испытаны сроки приживаемости, миграции и элиминации данного штамма из организма северных оленей.

При этом было установлено, что при подкожном методе введения, культура вакцина штамма Br.abortus 75/79-AB в дозах 25,50 и 100 млрд.м.к. на 15 день хорошо расселяется в организме и вызывает развитие доброкачественного генерализованного процесса.

Следует отметить, что в опыте культуры вакцинного штамма были выделены от всех животных привитых подкожно в дозах 25,50 и 100 млрд.м.к.

В большой половине случаев вакцинальный процесс протекал генерализованно (из 9 исследованных животных от 5-ти культур выделили из селезенки).

При убое животных из всех групп в более отдаленные сроки после вакцинации (45 и 90) было установлено, что к этому времени бруцеллы вакцинного штамма практически полностью элиминируются из организма оленей.

Только от одного оленя из трех иммунизированных в дозе 100 млрд.м.к. животных, на 45-й день была получена одна культура из пробы печени.

3.4. Изучение иммунологической реактивности организма северных оленей при введении различных доз вакцины из штамма Br.abortus 75/79-AB

В опыте нами были использованы 27 взрослых северных оленей фактории «Томпо», Томпонского улуса РС (Я). Иммунологическую реактивность изучали на 27 животных, разделенных на три группы, которых иммунизировали подкожно в дозах 25,50 и 100 млрд. м.к.

Подкожную инокуляцию проводили по общепринятой методике в верхней трети шеи. У иммунизированных животных была изучена динамика серологических реакций в РБП, РА и РДСК на 7, 15, 30, 45, 70, 90 и 120 дни после вакцинации, а также аллергическая на 30 день после иммунизации, при этом использовали бруцеллин ВИЭВ.

Мы провели сравнительное изучение динамики антител в сыворотке крови северных оленей после подкожной их иммунизации вакциной из штамма Br.abortus 75/79-AB в дозах 25,50 и 100 млрд.м.к.

Сыворотку крови от иммунизированных оленей исследовали в РБП, РА и РДСК через 7, 15, 30, 45, 70, 90 и 120 дней после вакцинации.

При исследовании сыворотки крови животных в РБП после подкожного введения вакцины в дозах 25,50 и 100 млрд.м.к. положительные реакции отмечены у всех животных уже на 7 день и сохранялись до 45 дней (доза 25 млрд.м.к.).

Затем количество реагирующих животных постепенно снижалось и достигало нулевых значений к 70 дню после прививки.

При сопоставлении данных этой группы с данными, полученными в группах других животных, разница в показателях уровня антител была достоверной ($P < 0,05$).

Снижение уровня агглютинирующих антител ниже диагностического, было отмечено в крови северных оленей, привитых подкожно в дозе 100 млрд.м.к. через 70 дней, а у животных привитых дозами 25 и 50 млрд.м.к. исчезновение агглютининов началось с 30 дня после иммунизации.

Комплементсвязывающие антитела были выявлены в РСК на 7 день после введения, достигали максимального уровня к 30 дню и минимальных показателей к 120 дню после иммунизации.

При этом, титр антител у животных привитых в дозе 100 млрд.м.к. был значительно выше, чем у привитых дозами 25 и 50 млрд.м.к. ($P < 0,05$).

Таким образом, результаты изучения иммунологической реактивности вакцины из штамма Br.abortus 75/79-AB при введении в организм северных оленей показали, что прослеживается определенная зависимость уровня специфических антител в сыворотке крови исследованных животных от дозы вакцины из штамма Br.abortus 75/79-AB.

В то же время, динамика титров антител после введения вакцины из штамма Br.abortus 75/79-AB подтверждает, что данный штамм действительно является слабоагглютиногенным и после 70 дня выпадают диагностические титры в сыворотке крови привитых животных.

Вместе с тем, титры агглютининов и комплементсвязывающих антител в сыворотке крови северных оленей привитых подкожно в дозе 100 млрд.м.к. были значительно выше и сохранялись более продолжительное время, чем у привитых в дозах 25 и 50 млрд.м.к. ($P < 0,05$)

Выявление реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) у животных *in vivo* основана на применении аллергического исследования специфическим аллергеном.

В наших исследованиях аллергическое исследование подопытных животных пальпебральной пробой проводили бруцеллином ВИЭВ на 70-й день после вакцинации вакциной из штамма Br.abortus 75/79-AB.

Аллергическое исследование проведенное с использованием бруцеллина ВИЭВ показало, что процент положительно реагирующих животных на 70 день после вакцинации составляет 22,2-25,0% и в целом не зависит от дозы введения исходного штамма.

3.5. Изучение иммуногенных свойств вакцины из штамма Br.abortus 75/79- АВ на северных оленях

Одним из условий при проведении экспериментальных работ, связанных с определением напряженности и продолжительности иммунитета, создаваемого у животных тем или иным вакцинным препаратом, является установление минимальной иммунизирующей дозы, вызывающей заражение 100% (ИД 100) интактных животных, аналогичного возраста и физиологического состояния.

В ранее проведенных опытах нами было установлено, что доза в 2,5 млн. м.к. вызывает у северных оленей генерализованную форму инфекции и это доза составляет минимальную инфицирующую дозу референтного штамма Br.suis 1330.

С целью проверки иммунитета через 5 месяцев после вакцинации 9 подопытных (по 3 животных в группе) и 3 контрольных (интактных) северных оленей были заражены референтной культурой Br.suis 1330, доза которой ранее была оттитрована на 12 северных оленях.

Культуру вводили конъюнктивальным методом в дозе 25 млн. м.к. (10 ИД 100).

Убой и бактериологическое исследование животных проводили через 30 суток после заражения.

От каждого животного для бактериологического исследования было взято по 15-18 объектов и были произведены высевы на специальные питательные среды (МППБ и МППГА с глюкозой).

Результаты проверки напряженности иммунитета показали что в группах северных оленей, привитых вакциной из штамма Br.abortus 75/79 – АВ подкожным методом в дозах соответственно 25, 50 и 100 млрд.м.к. культуры бруцелл не были выделены (иммунны 100%). Контрольные животные заразились все. Таким образом, результаты опыта по проверке состояния иммунитета у северных оленей привитых вакциной из штамма

Br.abortus 75/79 – АВ показали, что через 5 месяцев после иммунизации, северные олени привитые вышеуказанной вакциной в разных дозах подкожного введения противостояли заражению референтным штаммом Br. suis 1330.

ВЫВОДЫ

1. Результаты эпизоотологического исследования свидетельствуют о том, что с 2003 года оздоровлено от бруцеллеза поголовье северных оленей Булунского, Кобяйского и Томпонского улусов. Начато постадное оздоровление в Жиганском, Оленекском, Усть-Янском и Эвено-Бытантайском улусах.

Вместе с тем в тех территориях, где маршруты стад соприкасаются с популяциями диких северных оленей необходимо продолжить вакцинацию молодняка текущего года рождения и ревакцинацию молодняка достигшего 18-ти месячного возраста вакциной из штамма *Brusella abortus* 82.

2. Результаты изучения реактогенных свойства вакцины из штамма *Br.abortus 75/79-AB* свидетельствуют о том, что показатели физиологического состояния организма при подкожной иммунизации зависят от дозы препарата (реактогенность менее выражена при введении 25 и 50 млрд.м.к.). Также данная вакцина не обладает абортотропными свойствами.

3. Анализ данных по изучению приживаемости показывает, что при подкожном методе введения культура вакцинного штамма *Br.abortus 75/79-AB* в дозах 25, 50 и 100 млрд.м.к. на 15 день хорошо расселяется в организме и вызывает развитие доброкачественного генерализованного процесса.

При убое животных в более отдаленные сроки после вакцинации (45 и 90) было установлено, что к этому времени бруцеллы вакцинного штамма практически элиминируются из организма оленей.

4. Результаты изучения иммунологической реактивности вакцины из штамма *Br.abortus 75/79-AB* при введении в организм северных оленей подтверждают, что данный штамм действительно является слабоагглютиногенным и к 70 дню выпадают диагностические титры в сыворотке крови привитых животных.

Аллергическое исследование проведенное с использованием бруцеллина ВИЭВ показало, что процент положительно реагирующих на 70 день после вакцинации составляет 22,2-25,0 % и в целом не зависит от дозы введения исходного штамма.

5. Результаты проверки напряженности иммунитета у северных оленей привитых вакциной из штамма Br.abortus 75/79-AB показало, что через 6 месяцев после иммунизации, северные олени привитые вышеуказанной вакциной в разных дозах подкожного введения противостояли заражению референтным штаммом Br.suis 1330 в дозе 25 млн.м.к. (100 % иммунны).

Полученные данные свидетельствуют о том, что вакцина из слабоагглютиногенного штамма Br.abortus 75/79-AB является безвредной для организма оленей и пригодной для иммунизации и иммунопрофилактики бруцеллеза. Оптимальной для северных оленей является доза 50 млрд.м.к.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ И РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Разработаны методические рекомендации "Применение вакцины из штамма Br.abortus 75/79-AB для профилактики и борьбы с бруцеллезом северных оленей; Рекомендации /ФГОУ АВО МСХ РФ. Якутская государственная сельскохозяйственная академия – Якутск, 2005. – 11с.

(Рассмотрены и одобрены на заседании кафедры эпизоотологии и паразитологии и Ученым Советом ФВМ ЯГСХА, протокол №11 от 17 июня 2005 года).

2. Полученные результаты НИР использованы при разработке комплекса ветеринарно-санитарных мероприятий по профилактике и оздоровлению оленеводческих хозяйств от бруцеллеза северных оленей в Республике Саха (Якутия).

Основные материалы диссертации опубликованы в работах:

1.Аммосов Г.Г., Слепцов Е.С., Пивоваров А.Г. Приживаемость вакцинного штамма Br.abortus 75/79-AB в организме северных оленей // Материалы научно-практ.конференции «Меры по реализации Президентской программы социального развития села на период до 2006 года» М.: Изд-во МСХ РФ, 2004. С. 376-378

2.Дьячковский Л.Т., Аммосов Г.Г. Морфологические изменения в органах и тканях экспериментально вакцинированных оленей вакциной из штамма НАК-1//Мат. научно-практ. конференции III конгресса оленеводов мира. Якутск, 2005.

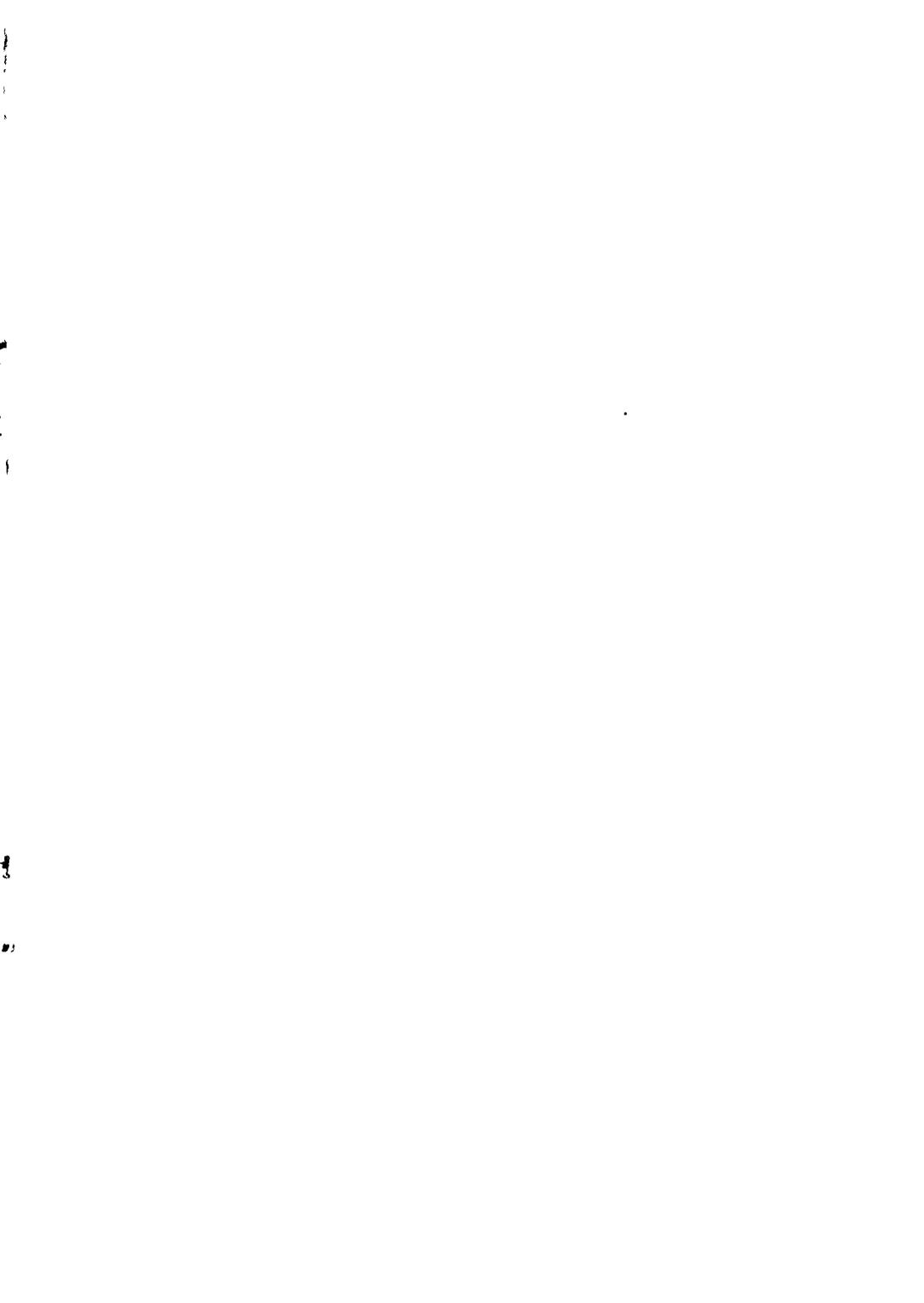
3.Аммосов Г.Г., Слепцов Е.С., Дьячковский Л.Т. Применение вакцины из штамма BRUCELLA ABORTUS 75/79-AB для профилактики и борьбы с бруцеллёзом северных оленей. 10 с.

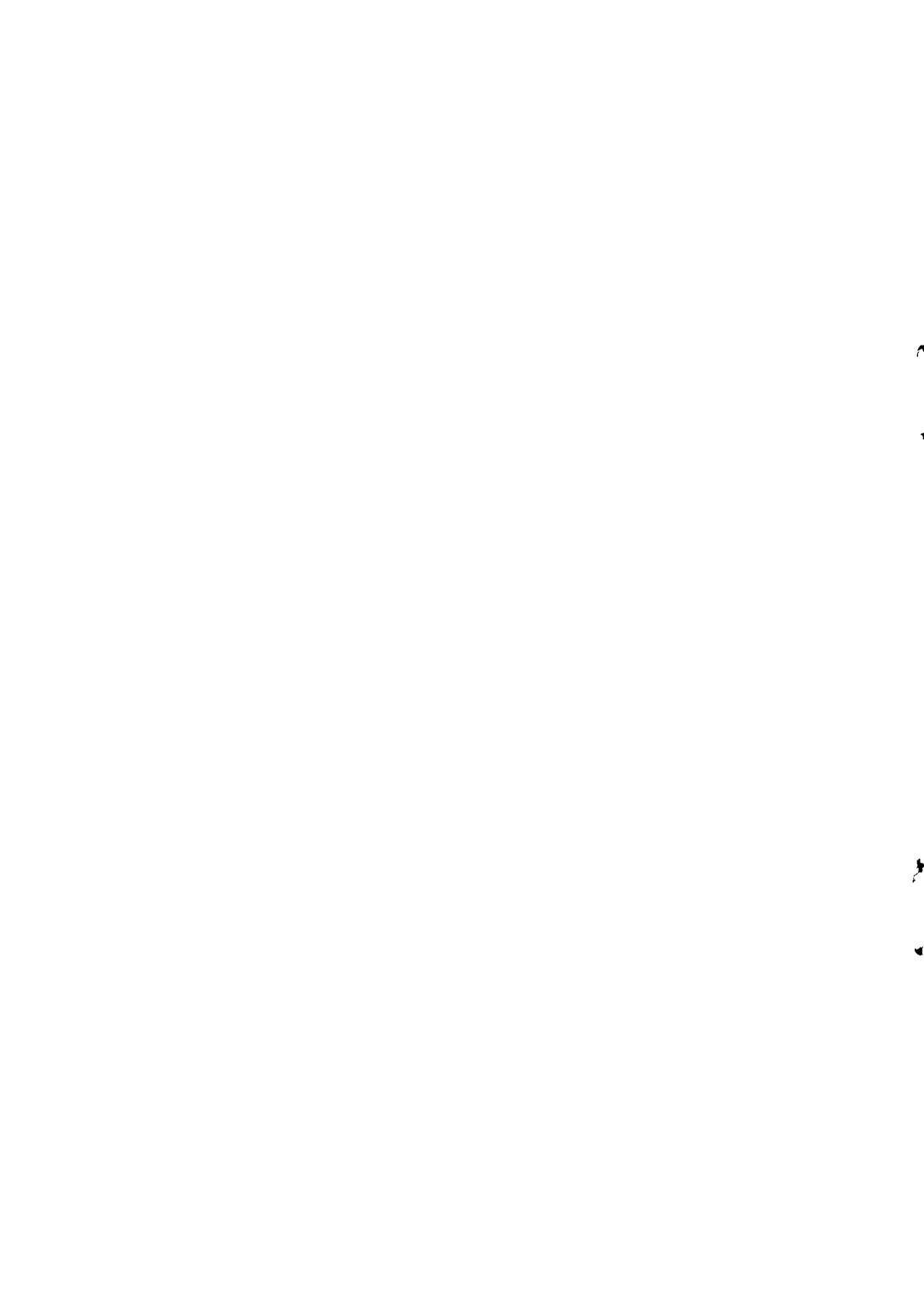
4.Аммосов Г.Г. Изучение иммуногенных свойств вакцины из штамма Br.abortus 75/79-AB// Материалы научно-практ.конф. посвященной 70-летию Новосибирского государственного агроуниверситета, Новосибирск, 2005. С.18

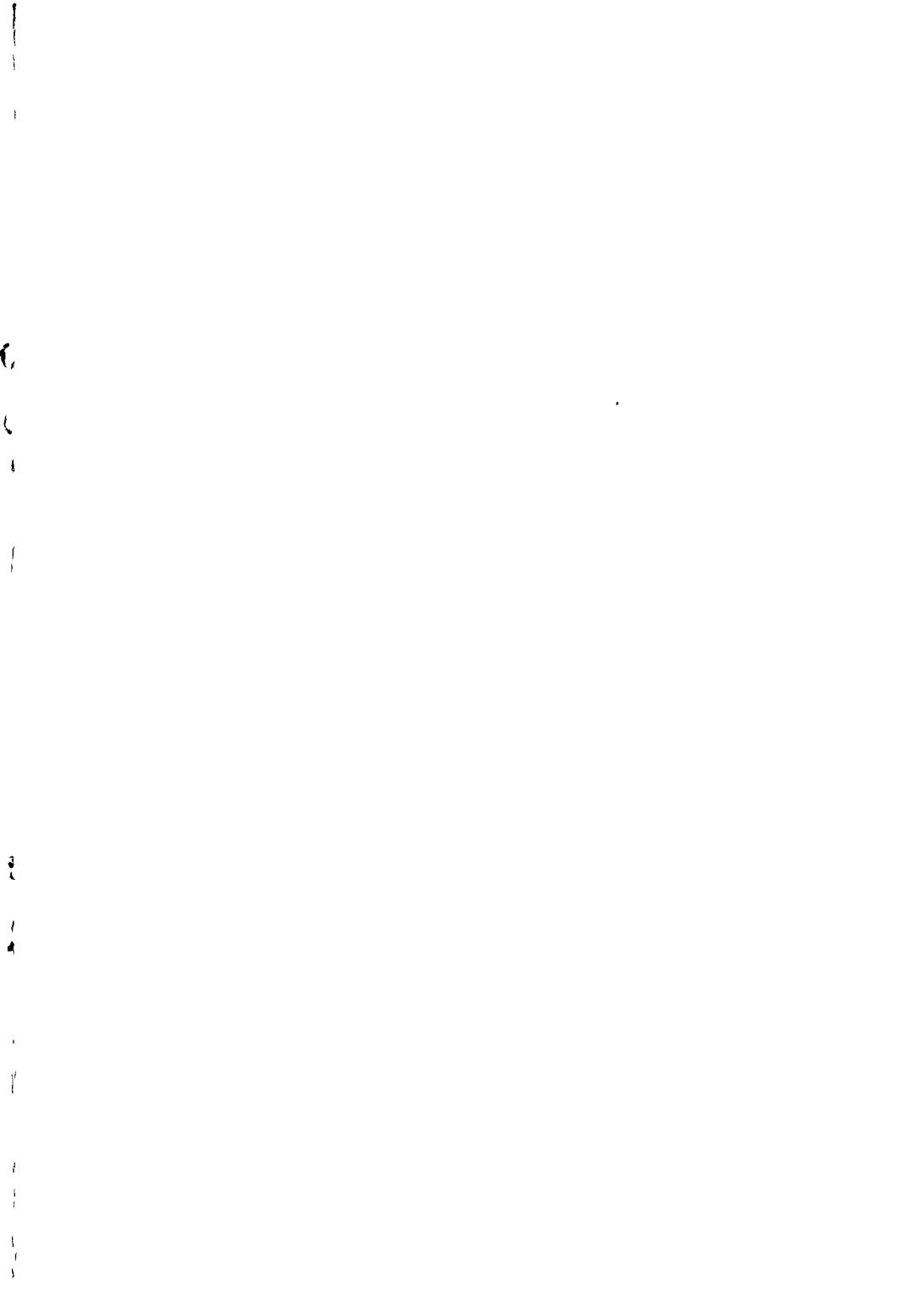
Подписано в печать 27.04.2006. Формат 60x 84/16. Бумага тип. №2. Гарнитура «Таймс».
Печать офсетная. Печ. л. 1,5. Уч.-изд. л. 1,8. Тираж 100 экз. Заказ//з .

Издательство ЯГУ, 677891, г. Якутск, ул. Белинского, 58.

Отпечатано в типографии издательства ЯГУ







1006A
9950

3

- 9950

598