Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>

УКРАЇНСЬКА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК

ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧНОЇ

ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ

# Орлов Сергій Миколайович

УДК 619: 616. 98: 616. 682-002: 615. 371

**ІМУНОГЕННІСТЬ І АНТИГЕННІСТЬ ІНАКТИВОВАНИХ**

**ЕМУЛЬСИН - ВАКЦИН ПРОТИ ІНФЕКЦІЙНОГО ЕПІДИДИМІТУ**

**БАРАНІВ ІЗ ШТАМІВ BRUCELLA ABORTUS ТА BRUCELLA OVIS**

16.00.03 – ветеринарна мікробіологія та вірусологія

**АВТОРЕФЕРАТ**

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата ветеринарних наук

Харків – 2004

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Інституті експериментальної і клінічної ветеринарної медицини УААН.

**Науковий керівник**

доктор ветеринарних наук, старший науковий співробітник

**Бабкін Анатолій Федорович**, Інститут експериментальної і

клінічної ветеринарної медицини УААН, завідувач лабораторії

вивчення хвороб рогатої худоби.

**Офіційні опоненти:**

доктор ветеринарних наук, старший науковий співробітник

**Ушкалов Валерій Олександрович**, Інститут експериментальної і

клінічної ветеринарної медицини УААН, завідувач лабораторії

вивчення хвороб молодняку;

кандидат ветеринарних наук, доцент

**Руденко Анатолій Федорович**, Луганський національний

аграрний університет Міністерства аграрної політики України,

декан факультету ветеринарної медицини.

**Провідна установа**

Одеський державний аграрний університет

Міністерства аграрної політики України,

кафедра мікробіології та вірусології, м. Одеса.

Захист відбудеться “ 10 ” листопада 2004 р. о 11 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.359.01 в Інституті експериментальної і клінічної ветеринарної медицини УААН за адресою: 61023, м. Харків, вул. Пушкінська, 83.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту експериментальної і клінічної ветеринарної медицини УААН за адресою: м. Харків, вул. Пушкінська, 83.

Автореферат розісланий “ 5 ” жовтня 2004 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради,

## доктор ветеринарних наук Бабкін А.Ф.

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми.** Інфекційний епідидиміт баранів (бруцелаовісну інфекцію) реєструють в багатьох країнах світу з розвинутим вівчарством. Захворювання на інфекційний епідидиміт завдає економічних збитків за рахунок порушення селекційної роботи, зниження плідності племінних баранів, недоодержанням приплоду у вівцематок, витратами на проведення профілактичних заходів. Оздоровлення неблагополучних на інфекційний епідидиміт (ІЕ) баранів господарств шляхом багаторазових повторних серологічних досліджень та ізоляції реагуючих тварин пов’язано з значними економічними витратами і малоефективне на вівцефермах з великим поголів’ям (Руденко А.Ф., 1986; Blasco J.M., 1990; Дейнеш А., 1992; Бабкін А.Ф., 1998; OIE, 5th edition, 2004). Для специфічної профілактики бруцелаовісної інфекції були запропоновані живі протибруцельозні вакцини з штамів B. abortus 7-26, B. melitensis Rev-1 (Жованік П.М. та інші, 1980-1983; Marin C.M. et al., 1990; Косілов І.А., Хлистунов А.Г., 1987, 1996). Проте, використання живих вакцин у зв’язку з можливою реверсією вірулентності вакцинних штамів не бажано.

Перспективним є напрямок викоренення збудника з використанням інактивованих ад’ювант-вакцин з штамів B. ovis, B. abortus та B. melitensis (West D.M., Bruere A.N., 1979; Alton M.J. et al., 1984; Bailey K.M., 1987; Селімханов Г., 1980; Афанас’єв Б.Н., 1984, Касимов Т.К., 1985, 2002). У Росії в ВІЕВ розроблена і застосована у виробничих умовах з позитивним результатом інактивована емульсин-вакцина з штаму B. ovis 64 при оздоровленні вівчар-ських господарств від інфекційного епідидиміту баранів (Абулхаіров Г.Ш., 1994; Мельніченко В.І., Ромахов В.А. та інші, 1998).

Розробка екологічно безпечного та високоімуногенного препарату для профілактики інфекційного епідидиміту баранів, а також удосконалення системи контролю бруцелаовісної інфекції в умовах застосування вакцин є актуальною проблемою, яка потребує вирішення.

**Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертація виконана згідно наукової тематики державних завдань Інституту експеримен-тальної і клінічної ветеринарної медицини УААН: ОНТП 0.51.09.01.16Д – Внедрить в производство научно обоснованную систему мероприятий по профилатике и борьбе с бруцеллезом с.-х. животных (1986-1990 рр.); УАО 1009822Р – Удосконалити диференційну діагностику та профілактику бруцельозу сільськогосподарських тварин (1991-1995 рр.); 04.04 – Удосконалити систему і засоби контролю епізоотичної ситуації по бруцельозу тварин в Україні, № держреєстрації 0197U000757 (1996-2000 рр.) та 05.03 – Розробити та впровадити сучасні засоби і методи діагностики й профілактики бруцелаовісної, кампілобактерійної і хламідійної інфекцій, № держреєстрації 0101U001610 (2001-2005 рр.).

**Мета і завдання дослідження.** Метою наукової роботи було виготовити та визначити імуногенність, антигенність та нешкідливість інактивованих емульсин-вакцин проти інфекційного епідидиміту баранів із штамів Brucella abortus і Brucella ovis, розробити регламент на виготовлення і контроль вакцини та настанову по її застосуванню**.**

Для досягнення зазначеної мети на вирішення були поставлені наступні завдання: вивчити стабільність культурально-морфологічних і антигенних властивостей вакцинних штамів B. abortus 7-26 та B. ovis 67/Б, а також вірулентність контрольних штамів B. оvis, що використорують для зараження тварин при дослідженні напруженості імунітету; провести адаптацію штаму B. ovis 67/Б до виробничих умов вирощування бактеріальної маси; виготовити інактивовану емульсин-вакцину з штаму B. abortus 7-26, провести контроль на стерильність, нешкідливість і в порівняльних дослідах на морських свинках та баранах визначити імуногенність живої та інактивованої вакцин із штаму B. abortus 7-26; в порівняльних дослідах на морських свинках та баранах вивчити антигенні та імуногенні властивості емульсин- і гидроокисалюминієвої вакцин із штаму B. ovis 67/Б та клонів 67/Б-1, 67/Б-2; визначити значення специфічного гуморального та клітинного факторів імунітету в оцінці імуногенності інактивованих емульсин-вакцин та вірулентності контрольних штамів.

**Об’єкт дослідження:** специфічна профілактика інфекційного епідидиміту баранів, живі та інактивовані вакцини.

**Предмет дослідження:** імуногенність, антигенність та нешкідливість інактивованних вакцин проти інфекційного епідидиміту баранів із штамів Brucella abortus та Brucella ovis, гуморальні та клітинні реакції специфічного імунітету у щеплених та інфікованих тварин.

**Методи дослідження:** при виготовленні та визначенні нешкідливості, імуногенності, антигенності вакцинних препаратів та вірулентності контрольних штамів застосували метод біологічного експерименту, методи бактеріологічного, гематологічного, статистичного дослідження, реакції гуморального та клітинного імунітету.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше при інфекційному епідидиміті баранів визначено високу імуногенність інактивованої емульсин-вакцини в порівнянні з живою із вітчизняного вакцинного штаму B. аbortus 7-26, інактивованої емульсин-вакцини з штаму B. ovis 67/Б та його клонів.

Селекційовано клони B. ovis 67/Б-1 та 67/Б-2 вакцинного штаму B.ovis 67/Б, які адаптовані до умов культивування на живильних середовищах без сироватки та підвищеної концентрації СО2, з метою здешевлення технології виготовлення інактивованої емульсин-вакцини. Визначено ступінь імунної відповіді та протективних властивостей виготовлених вакцин із штаму B. ovis 67/Б та клонів 67/Б-1, 67/Б-2 з різними ад’ювантами на морських свинках при бруцелаовісній інфекції. На основі цього штаму вперше виготовлено і досліджено інактивовану емульсин-вакцину проти інфекційного епідидиміту. В дослідах на морських свинках та баранах встановлено високу імуногенну активність (100 % імунних тварин) і оптимальну імунізуючу дозу інактивованої емульсин-вакцини з штаму B. ovis 67/Б та клону 67/Б-1 (5,0х109 м. к./ см3).

Досліджена динаміка й тривалість поствакцинальної серопозитивності та специфічної клітинної реактивності організму тварин і ступінь захисту після прямого зараження баранів, щеплених вакцинами з вітчизняних штамів B. abortus та B. ovis.

Одержано патенти України на винахід “Штам Brucella ovis 67/Б для виготовлення інактивованої емульсин-вакцини проти інфекційного епідидиміту баранів“ (пат. 51379 А) та “Інактивована емульсин-вакцина з штаму Brucella ovis 67/Б проти інфекційного епідидиміту баранів” (пат. 53940 А).

**Практичне значення одержаних результатів.** Встановлені параметри виготовлення інактивованої емульсин-вакцини із вітчизняного штаму B. ovis 67/Б та клону B. ovis 67/Б-1. Науково обгрунтовано та запропоновано проводити оцінку ступеня інфікованності тварин в контролі після аплікації B. оvis на слизову оболонку очей та препуція баранам комплексно, враховуючи поряд з ізоляцією культури заражаючого штаму появу та титри антитіл в РТЗК, РІД з бруцелаовісним антигеном. Розроблено лабораторний регламент на виготовлення і контроль інактивованої емульсин-вакцини проти інфекційного епідидиміту баранів та тимчасову настанову по ії застосуванню, що розглянуті методкомісією ІЕКВМ та затверджені директором ІЕКВМ 22.04.2004 р. Застосування вакцини дозволить зменшити економічні збитки і скоротити строки оздоровлення вівцегосподарств, неблагополучних щодо інфекційного епідидиміту баранів.

**Особистий внесок здобувача** полягає у безпосередньому виконанні наукових експериментів, бактеріологічних, серологічних та гематологічних методів досліджень, статистичній обробці та аналізі первинних даних, узагальненні результатів та висновків.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертації доповідались й обговорювались на: Всесоюзній науковій конференції “Повышение продуктивности с.-х. животных и усовершенствование мер борьбы с болезнями в условиях интенсивного ведения животноводства и создания фермерских хозяйств” (м. Харків, ХЗВІ, 1991 р.); конференції молодих вчених “Проблеми вет. медицини по обслуговуванню тваринництва колективних та фермерських господарств” (м. Харків, ІЕКВМ, 1992 р.); Міжнародній науковій конференції “Общая эпизоотология: иммунологические, экологические и методологические проблемы” (м. Харків, ІЕКВМ, 1995 р.), 5-му з’їзді паразитоценологів України “Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини” (м. Харків ХЗВІ, ХДМУ, 2001 р.); Міжнародних науково-практичних конференціях “Ветеринарна наука на порозі ХХІ віку” (м. Харків, ІЕКВМ, 2000 р.), “ІЕКВМ – 80 років на передовому рубежі ветеринарної науки” (м. Харків, ІЕКВМ, 2002 р.), “Актуальні проблеми ветеринарної медицини в умовах сучасного ведення тваринництва” (м. Феодосія, 2003 р.), “Ветеринарна медицина – 2004: сучасні аспекти розробки, маркетингу і виробництва ветеринарних препаратів” (м. Феодосія, 2004 р.); засіданнях і звітних сесіях вченої ради ІЕКВМ УААН в 1990–2003 рр.; засіданнях методичної комісії ІЕКВМ УААН; міжлабораторному засіданні ІЕКВМ УААН 11.05.2004 р.

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 12 наукових праць, з них 8 статей у фахових виданнях, та отримано два патенти на винахід.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація складається з вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, пропозиції виробництву та додатків. Основний зміст викладено на 134 сторінках комп’ютерного тексту, 35 таблицях та 9 рисунках. Список використаних джерел включає 267 джерел, у тому числі 110 іноземних.

**МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ**

Дисертаційна робота виконана впродовж 1989-2002 рр. в лабораторії вивчення хвороб рогатої худоби та на експериментальній базі Інституту експериментальної і клінічної ветеринарної медицини ІЕКВМ УААН. В дослідженнях використано 9 штамів B. abortus, B. ovis і B. melitensis, 2 комерційних алергени (бруцелін, бруцелоовін), 109 баранів, 250 морських свинок, 12 кролів та 110 білих мишей*.* При визначенні гуморального імунітету досліджено 4194 проби сироватки, клітинного імунітету 1260 та 862 проби крові при гематологічних дослідженнях. Бактеріологічно досліджено біомате-ріал від 109 баранів (2071 об’єкт) та 219 морських свинок (2105 об’єктів).

Культурально-морфологічні та біологічні властивості 2-х вакцинних штамів B. abortus 7-26, B. ovis 67/Б (ІЕКВМ) і 3-х вірулентних штамів B. ovis 65939, B. ovis 8406, B. ovis 08337 вивчали за методами, запропонованими ФАО / ВОЗ (1986) та МЕБ (2000). З метою здешевлення технології та оптимізації виготовлення інактивованої емульсин-вакцини селекційовані клони B. ovis 67/Б-1 та 67/Б-2.

Інактивацію бактеріальних суспензій B. abortus та B. ovis з концентрацією від 25,0х106 до 50,0х109 м. к./ см3 проводили 0,4 % комерційним формаліном. Повноту інактивації перевіряли шляхом бактеріальних висівів за ГОСТ 28085-89. Інактивовані емульсин-вакцини одержували шляхом швидкісної гомогенізації інактивованої суспензії бруцел з масляним ад’ювантом ВНДЯІ або Montanide ISA 70 на гомогенізаторі Type MPW 302, а гідроокисалюмінієву (ГОА) вакцину шутулюванням на шутель-апараті суспензії бруцел з 20 % гідроксалом та наступним витримуванням для адсорбції в термостаті t 37±0,5О С. Виготовлено 17 експериментальних серій інактивованих вакцин із штамів B. abortus 7-26, B. ovis 67/Б, клонів B. ovis 67/Б-1 та 67/Б-2. На етапах виготовлення окремих антигенних компонентів і вакцин проводили контроль стерильності та нешкідливості. Нешкідливість вакцини досліджували в біопробі на двох морських свинках і 10 білих мишах на кожну серію препарату. Надалі нешкідливість визначали за ГСТУ 46.024-2002. Реактогенні властивості вакцин досліджували після їх введення візуально клінічним спостереженням за станом тварин, появою локальних змін, а також термометрією.

Вірулентні властивості контрольного штаму B. оvis 65939 визначали в досліді на 20 морських свинках після підшкірного введення культури в дозах від 2,0х105 до 2,0х109 м. к. та в досліді на 16 баранах шляхом аплікації на кон’юнктиву і слизову оболонку препуція в дозах від 10,0х107 до 10,0х109 м. к. Бактеріологічні дослідження біоматериалу тварин проводили відповідно до “Настанови по діагностиці бруцельозу тварин” (1982, 1998) та “Методичних рекомендацій по бактеріологічній діагностиці бруцела овіс инфекції” (УНДІЕВ, 1987).

Гуморальну імунну відповідь у тварин вивчали серологічним дослідженням сироватки крові тварин на бруцельоз в РБП, РА, РЗК і на інфекційний епідидиміт в РТЗК, реакції імунодифузії (РІД). Серологічні реакції ставили за загально прийнятими методиками згідно з настановами по застосуванню з використанням комерційних діагностикумів, виготовлених на Херсонській біофабриці, в ДП “Ветмедицина” (Україна) та НВО “РІВЕС” (Росія). Реакцію аглютинації проводили також з застосуванням виготовленого нами бруцельозного антигену з штаму B. abortus 7-26.

Клітинну імунну відповідь у щеплених і контрольних баранів вивчали в опсоно-фагоцитарній реакції (ОФР) та специфічного лізису лейкоцитів (РСЛЛ). При дослідженні крові методом ОФР за В.А. Штрітером (1940) визначали інтенсивність фагоцитозу (фагоцитарне число) та фагоцитарну активність лейкоцитов відносно суспензії B. ovis 65939 з оцінкою результатів за В.Є. Чумаченко (1990). Специфічну гіперчутливість лейкоцитів визначали РСЛЛ з бруцеліном за Г.А. Об’єдковим (1989) та з бруцелоовіном. Гематологічні дослідження крові (визначення кількості лейкоцитів та лейкоцитарної формули) проводили за загальноприйнятими методами.

В порівняльному досліді на 109 морських свинках вивчили імуногенність живої (кон’юнктивальна аплікація в дозах 5,0х107 і 4,0х108 м. к.) та інактивованої емульсин-вакцини (підшкірна вакцинація в дозах від 25,0х106 до 2,0х109 м. к.) з штаму B. abortus 7-26 в порівнянні з підшкірним введенням живої вакцини в дозі 25,0х107 м. к. Інактивовану емульсин-вакцину з штаму B. abortus 7-26 досліджено на 67 баранах при підшкірному введенні в дозах 5,0х106-50,0х109 м. к. в порівнянні з живою вакциною в дозі 5,0х109 м. к.

В комісійних дослідах на 75 морських свинках і 26 баранах провели випро-бування інактивованої емульсин-вакцини проти інфекційного епідидиміту баранів з штаму B. ovis 67/Б та його клонів 67/Б-1, 67/Б-2 на основі масляних ад’ювантів російського і французського (Montanide ISA 70) виробництва.

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою комп’ютерної програми “Stat SF”, розробленою в ІЕКВМ УААН.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ**

**Вивчення культурально-морфологічних та біологічних властивостей вакцинних штамів Brucella abortus та Brucella оvis.** Культурально-морфологічні та антигенні властивості вакцинних штамів B. abortus 7-26 та B. ovis 67/Б стабільно зберігалися впродовж 10 років шляхом пересівів на щільних живильних середовищах з інтервалом 30-45 діб або в ліофілізованному стані. Встановлено, що культура B. abortus 7-26 (RS– форма) росла на бруцельозному середовищі (МППГГА) в вигляді напівпрозорого нальоту, утворювала сірководень, росла на напіврідкому агарі з фуксином в концентрації 1:50000, була чутливою до бактеріофагу Тб, аглютинувалась S– та R– бруце-льозними сироватками і 0,2 % розчином трипафлавіну, утворювала осад через 72 години в пробі термофлокуляції. Після фарбування за Уайт-Вільсоном колонії мали фіолетовий колір із червоним відтінком у центрі. Біологічні властивості культури B. ovis 67/Б свідчили, що штам стабільно зберігав ознаки для B. ovis в типовій R– формі: культура росла на бруцельозному середовищі з сироваткою в умовах підвищенного вмісту СО2 в атмосфері культивування, не продукувала Н2S, росла на напіврідкому агарі з тіоніном в концентрації 1:50000, позитивно реагувала з R– бруцельозною, R– родо та видоспеци-фічними бруцелаовісними і негативно з S– бруцельозною сироватками; мала аглютинацію в трипафлавіновій пробі та реакції термоаглютинації. Після фарбування за Уайт-Вільсоном колонії культури на щільних середовищах мали синьо-фіолетовий колір.

Нами селекційовані клони B. ovis 67/Б-1 і B. ovis 67/Б-2, що стабільно зберігали антигенні властивості вихідного штаму B. ovis 67/Б та відрізнялися накопиченням і більш легким змивом бактеріальної маси (концентрація суспензії 176,2х109±12,7 та 169,4х109±13,2 м. к./ см3) при вирощуванні на щільних бруцельозних середовищах без сироватки крові тварин і без підвищенного вмісту СО2 в атмосфері.

Вивчення вірулентних властивостей контрольного штаму B. ovis 65939 в дослідах на 20 морських свинках та 16 баранах свідчило, що інфікуюча доза, яка викликає зараження 50 % (ІД50) дослідних тварин склала: для морських свинок – 0,36х106 м. к./ см3, для баранів – 8,13х108 м. к./ см3. Інфікуюча доза 2,0х108 м. к./ см3 після підшкірного введення викликала зараження 100 % морських свинок з генералізованою формою інфекції, індекс інфікованності (І. І.) – 25,0 %. В досліді на баранах інфікуюча доза 10,0х109 м. к./ см3 після одночасної аплікації на слизову оболонку очей та препуція викликала зараження 100 % тварин з генералізованою формою інфекції, індекс інфікованності становив 15,3 %.

**Порівняльне вивчення імуногенних властивостей живої та інактивованої вакцин із штаму Brucella abortus 7-26 на морських свинках.** В трьох дослідах на 109 морських свинках вивчили приживлюваність та гуморальну імунну відповідь після кон’юнктивальної аплікації живої та підшкірного щеплення інактивованої вакцин із штаму B. abortus 7-26 відносно бруцельозного та бруцелаовісного антигенів. В першому досліді 24 морські свинки (по 12 голів в групі) вакцинували шляхом аплікації на кон’юнктиву по 0,2 см3 25,0х107 і 2,0х109 м. к. (дози 5,0х107 та 4,0х108 м. к.) культури вакцинного штаму B. abortus 7-26; в другому досліді (37 морських свинок) – щепили живою вакциною штаму 7-26 кон’юнктивально в дозі 4,0х108 м. к. або підшкірно 25,0х107 м. к. в об’ємі 1,0 см3 та інактивованою емульсин-вакциною з даного штаму в дозах 25,0х107 і 2,0х109 м. к. підшкірно двократно; в третьому досліді (48 морських свинок) – щепили кон’юнктивально в дозах 5,0х107 та 4,0х108 м. к. або підшкірно в дозі 25,0х107 м. к. живою вакциною, а також підшкірно однократно інактивованою емульсин-вакциною з шт. B. abortus 7-26 в дозах 25,0х106, 25,0х107 і 2,0х109 м. к. Морських свинок дослідних і контрольних груп (2 і 3-й дослід) через 2 місяця після щеплення заразили підшкірно культурою B. ovis 65939 в дозі 2,0х109 м. к.

Після аплікації на кон’юнктиву культури вакцинного штаму B. abortus 7-26 в дозах 5,0х107 і 4,0х108 м. к. через 25 діб незалежно від дози вакцини виявили приживлення культури бруцел і розселення її по всьому організму тварин (І. І. – 66,7-76,2 %). Повну елімінацію вакцинної культури з організму спостерігали через 49 діб після щеплення. При серологічному дослідженні сироватки крові морських свинок в РА з комерційним бруцельозним S– антигеном антитіла виявили у титрі 1:10-1:20 у 33,3-66,7 % тварин з повним їх зникненням на 63 добу досліду, в той час як в РА з гомологічним антигеном культури B. abortus 7-26 всі морські свинки реагували в більш високому титрі 1:40-1:320. Після підшкірного щеплення живою вакциною з штаму B. abortus 7-26 бруцельозну та бруцелаовісну серопозитивність виявили у 16,7-33,3 % тварин через 45 діб, в той час як застосування інактивованої емульсин-вакцини викликало більш високий рівень гуморальних антитіл у всіх щеплених морських свинок, як з бруцельозним (РА – 2,70±0,11 lg, РЗК – 2,64±0,11 lg), так і з бруцелаовісним (РТЗК – 2,45±0,11 lg, РІД – 1,83±0,32 lоg2) антигенами.

У морських свинок, щеплених однократно в дозах 25,0х106, 25,0х107 та 2,0х109 м. к. інактивованою емульсин-вакциною, формувалися невеликі гранульоми (від 0,6х0,9 до 0,9х1,2 см2) в залежності від дози вакцини і залишалися у вигляді ущільнень до кінця досліду (90 діб). Після введення живої вакцини в дозі 25,0х107 м. к. вираженої місцевої реакції не спостерігали.

Через 60 діб після щеплення кон’юнктивальний спосіб аплікації живої вакцини з штаму B. abortus 7-26 в дозі 5,0х107 м. к. створював повний імунітет у 100 % тварин в порівнянні з підшкірним щепленням цієї вакцини в дозі 25,0х107 м. к., котра індукувала імунітет у 83,3-100,0 % тварин. Інактивована емульсин-вакцина з штаму B. abortus 7-26 при підшкірному введенні в дозі 25,0х106 м. к. створювала імунітет у всіх щеплених морських свинок. У морських свинок контрольних груп заражаючий штам реізольований у 83,3-100 % тварин, індекс інфікованності – 21,4-28,6 %.

**Порівняльне дослідження гуморальних і клітинних реакцій імунітету поряд з прямим зараженням для оцінки імуногенності інактивованої та живої вакцин із штаму Brucella abortus 7-26 в дослідах на баранах.** На 67 баранах інактивовану емульсин-вакцину досліджено в дозах 5,0х106; 5,0х109; 10,0х109; 25,0х109 і 50,0х109 м. к., живу вакцину в дозі 5,0х109 м. к., інактивовані суспензії бруцел в дозах 5,0х109 і 5,0х106 м. к. без ад’юванту. Контрольним тваринам вводили тільки ад’ювант або нічого не вводили. Імуногенну активність різних зразків емульсин-вакцини оцінювали за протективними і антигенними властивостями.

Спостереження показали, що реактогенність інактивованої вакцини знижувалася з зменшенням вмісту бруцел в дозі. Місцева реакція на введення інактивованої емульсин-вакцини в дозі 5,0х109 м. к. у баранів проявилася в вигляді безболісної припухлості розміром 1,5-1,8х2,0-2,5 см2. У баранів, щеплених емульсин-вакциною в більших дозах (10,0-50,0х109 м. к.), у 16,7 % тварин спостерігали кульгавість впродовж 12-15 діб і абсцеси асептичного характеру. Впродовж 10 діб після щеплення емульсин-вакцинами в дозах 5,0-50,0х109 м. к. виявлено підвищення температури тіла на 0,4-1,0ОС на 2 добу (39,3±0,14-39,8±0,37ОС) і на 5 добу на 1,3-1,5ОС в порівнянні з показниками в контрольних групах. Найменший підйом температури (на 0,50±0,11ОС) відмічали у баранів, щеплених емульсин-вакциною в дозі 5,0х109 м. к. В подальшому на 9-10 добу відзначали її зниження. При гематологічному дослідженні крові на 10 добу після щеплення баранів, щеплених емульсин-вакциною в дозах 5,0х109-50,0х109 м. к., виявили незначні зрушення незалежно від дози, а при підрахунку лейкоформули в мазках крові – збільшення паличкоядерних нейтрофілів до 1,52±0,33 % і моноцитів до 0,75±0,18 %, що свідчило про активізацію поліморфноядерних лейкоцитів і системи мононук-леарних фагоцитів. Кількість лейкоцитів крові та показники лейкоцитарної формули у баранів, щеплених інактивованою і живою вакцинами в дозі 5,0х109 м. к., на 168 добу після щеплення наближалися до вихідних даних. На 35-44 добу після контрольного зараження у щеплених інактивованою і живою вакцинами баранів (доза 5,0х109 м. к) зміна в лейкоформулі та загальному вмісту лейкоцитів в крові були незначними. У контрольних інфікованних баранів після зараження культурою B. ovis відмічали зрушення лейкоформули вліво до паличкоядерних нейтрофілів, зниження відносної і абсолютної кількості лімфоцитів та підвищення загальної кількості лейкоцитів крові, що свідчило про розвиток інфекційного процесу. Результати гематологічних показників також свідчать, що найменші зрушення в крові при вакцинному процесі виявили у баранів, щеплених інактивованою та живою вакцинами в дозі 5,0х109 м. к.

Застосування інактивованої емульсин-вакцини з штаму B. abortus 7-26викликає серопозитивність до бруцельозного та бруцелаовісного антигенів впродовж 7,5 місяців (строк спостереження). Титри антитіл при серологічному дослідженні баранів на 90 добу після щеплення емульсин-вакциною в дозі 5,0х109 м. к., був: в РБП 1:16-1:32 (4,50±0,33 log2), РА 1:400-1:800 (2,83±0,09 lg), РЗК 1:1280 (3,10±0 lg) з бруцельозним, а також з бруцелаовісним антигенами в РА 1:400-1:800 (2,83±0,09 lg), РТЗК 1:160-1:320 (2,35±0,10 lg), РІД 1:32-1:64 (5,50±0,33 lоg2). Слід зазначити, що після введення живої вакцини в дозі 5,0х109 м. к. зникненння серопозитивності у тварин виявили на 100 добу.

Результати дослідження з застосуванням ОФР показали, що на 15 добу після введення інактивованої емульсин-вакцини в дозах 5,0х109 і 5,0х106 м. к., живої вакцини в дозі 5,0х109 м. к. або ад’юванту (контроль) показник фагоцитарної активності лейкоцитів (ФА) до антигену B. ovis підвищився з 58,64±1,06 % у нещеплених тварин до 95,21±0,09; 92,0±1,41; 97,63±1,09 % та 90,62±1,63 % відповідно, р < 0,05 (рис. 1). Після введення інактивованих культур вакцинного штаму 7-26 без ад’юванту показник ФА був нижчим – 79,23±0,09 % і 74,45±1,56 % (р < 0,05).

**Рис. 1** **Динаміка показників РСЛЛ та фагоцитарної активності**

**лейкоцитів крові баранів, щеплених інактивованою та живою**

**вакцинами з штаму B. abortus 7-26 в дозі 5,0х109 м. к.**

Примітка: 1 гр. – щеплені емульсин-вакциною; 5 гр. – щеплені живою вакциною;

6 гр. – контроль (ад’ювант); – щеплення; – алергічна проба;

– контрольне зараження культурою B. оvis.

В подальшому на 140 добу досліду у тварин всіх груп відмічали зниження ФА. У баранів п’яти дослідних і контрольної груп показник фагоцитарного числа (ФЧ) на 15 добу після вакцинації становив відповідно: 6,24±0,42; 4,83±0,13; 5,52±0,17; 3,74±0,06; 5,81±0,43; 4,92±0,21 в порівнянні з даними до щеплення 2,27±0,08 (р < 0,05), що свідчило про інтенсивність фагоцитозу. Зниження ФЧ після 28 діб відмічено у всіх групах тварин. Разом з тим на 140 добу досліду ФЧ було вище у баранів, щеплених інактивованою і живою вакцинами (3,24±0,12; 2,73±0,12; 3,0±0,09), ніж у тварин після введення інактивованих культур без ад’юванту (2,45±0,08; 2,36±0,06) або одного ад’юванту (2,43±0,11, р < 0,05). Після контрольного зараження у всіх групах ФА лейкоцитів зростала. Показник ФЧ також підвищувався і на 28 добу після зараження був – 4,72±0,27; 3,84±0,2; 3,35±0,15; 3,74±1,73; 3,31±0,18; 4,32±0,15 (р < 0,05) у баранів п’яти дослідних і контрольної груп відповідно.

Результати вивчення специфічної клітинної імунної відповіді у тварин свідчать, що уже через 5 діб після введення баранам емульсин-вакцини або інактивованої суспензії штаму B. abortus 7-26 в дозі 5,0х109 м. к., in vitro виявили високий показник РСЛЛ з бруцеліном 20,34±3,56 % та 14,92±2,54 %, а з бруцелоовіном – 11,05±2,63 % і 17,35±2,04 % відповідно. Після щеплення живою вакциною з штаму 7-26 в дозі 5,0х109 м.к. через 5 діб показник РСЛЛ з бруцеліном та бруцелоовіном був дещо нижчим – 10,12±2,07 % і 15,84±2,82 %. Клітинна імунна відповідь після щеплення інактивованої культури штаму 7-26 в дозі 5,0х106 м. к. була меншою, ніж після введення більшої дози інактивованої або живої культури 5,0х109 м. к. Зниження показника РСЛЛ відмічено в дослідних групах через 15-28 діб після щеплення. Проте на 140 добу досліду реакція лейколізису з двома алергенами у баранів, щеплених емульсин-вакциною (5,0х109 і 5,0х106 м. к.) і живою вакциною, була в межах від 7,12±1,61 % до 9,44±2,42 %, а у баранів після введення інактивованих культур штаму 7-26 – від 2,54±0,75 % до 6,0±1,25 %, р < 0,05. В контрольній групі тварин після введення одного ад’юванту показник РСЛЛ з алергенами був в декілька разів нижчий –0,74±0,26-2,12±0,65 % (р < 0,05), ніж в дослідних п’яти групах. На 14 добу після контрольного зараження культурою B. ovis цей показник з обома алергенами підвищився у всіх щеплених тварин. До 28 доби після зараження спостерігали подальше підвищення показника РСЛЛ у тварин, щеплених емульсин-вакциною в дозі 5,0х106 м. к. або інактивованою культурою. В той час як у баранів, щеплених емульсин- і живою вакцинами в дозі 5,0х109 м. к., відмічали зниження показника лейколізису з бруцелоовіном – з 19,64±1,68 до 13,64±2,32 % і з 10,12±1,78 до 9,32±1,93 % відповідно (р < 0,05).

У баранів контрольної групи на 28 добу після зараження виявили більш виражене підвищення показника РСЛЛ з бруцелоовіном 21,53±3,09 % в порівнянні з показником до введення заражаючої культури 1,63±0,46 %, р < 0,05. Цей показник з бруцелоовіном (21,53± 3,09 %) був значно вище показника РСЛЛ з бруцеліном (10,82±0,39 %, р < 0,05), що свідчить про більшу ступінь реактивності лімфоїдної системи організму інфікованих тварин до гомологічного антигену B. оvis.

При визначенні стану клітинного імунітету на введення інактивованої емульсин-вакцини через 150 і 180 діб в алерготесті з бруцелоовіном або бруцеліном виявили позитивну реакцію у 75-100 % тварин. В той час як у баранів, щеплених живою вакциною, і у контрольних тварин внутрішкірна або пальпебральна проба була негативною. Встановлено також, що на 7 добу після внутрішкірного введення бруцелоовіну в дозі 0,2 см3 щепленим емульсин-вакциною з штаму 7-26 у 100 % тварин показник РСЛЛ з двома алергенами in vitro суттєво збільшувався – 12,14±2,79-16,54±2,86 %, що свідчило за високу чутливість цього методу.

Таким чином, отримані нами результати щодо поствакцинальної фагоци-тарної активності нейтрофілів в ОФР свідчать про активізацію фагоцитарної системи імунітету. Щеплення баранів вакциною з штаму B. abortus 7-26 викликає підвищення специфічної гіперчутливості організму, зокрема лейкоцитів крові як до бруцеліну, так і до бруцелоовіну.

В дослідах на баранах через 6 місяців після однократного щеплення вакцини і контрольного зараження вірулентним штамом B. ovis 65939 шляхом одночасної аплікації на кон’юнктиву та слизову оболонку препуція в дозі 10,0х109 м. к. або підшкірного зараження штамом B. ovis 8406 (ВІЕВ) в дозі 20,0х109 м. к. імунітет виявили у 100 % щеплених баранів при ізоляції заражаючого штаму B. ovis у 88,9-100 % контрольних тварин, індекс інфікованності – 11,2-50,0 %. Слід також зазначити, що у всіх заразившихся баранів, від яких ізольовано культуру B. ovis, виявили появлення та зростання титру антитіл в серологічних реакціях з бруцелаовісним антигеном у 50-100 % тварин та підвищення показника РСЛЛ in vitro з бруцелоовіном на 5,2-19,4 % у всіх тварин. При оцінці ступеня інфікованності шляхом аплікації заражаючої культури на кон’юнктиву та слизову оболонку препуція поряд з виділенням культури обов’язково слід враховувати динаміку рівня антитіл в РІД та РТЗК, як показник розвитку інфекційного процесу. У тварин, щеплених емульсин-вакциною з штаму B. abortus 7-26 в дозі 5,0х109 м. к. при контрольному зараженні культурою B. ovis у зазначений спосіб не виявили підвищення титру антитіл в серологічнких реакціях, як з бруцелаовісним, так і з бруцельозним антигенами, а в РСЛЛ з бруцелоовіном відмічали зниження показника лейко-лізису перед діагностичним забоєм, що свідчило про формування системного захисту організму, забезпечення несприйнятливості до бруцелаовісної інфекції.

**Вивчення антигенних та імуногенних властивостей інактивованих ад’ювант-вакцин із штаму Brucella ovis 67/Б.** В дослідах на 50 морських свинках ми вивчили напруженість імунітету після введення інактивованої ад’ювант-вакцини проти бруцелаовісної інфекції з штаму B. ovis 67/Б та клонів 67/Б-1, 67/Б-2 з використанням різних ад’ювантів: масляного ад’юванту ВНДЯІ і гідроксалу. В першому досліді 10 морським свинкам (5 тварин в групі) інокулювали підшкірно емульсин-вакцину з штаму B. ovis 67/Б (серія 1) і 67/Б-2 (серія 2) в дозі 2,5х109 м. к., в контролі – препарат не вводили. В другому досліді 10 морським свинкам ввели емульсин-вакцини з шт. B. ovis 67/Б-2 (с. 2) і ГОА-вакцину з шт. B. ovis 67/Б-1 (с. 1) в однаковій дозі 2,0х109 м. к., 3-я група морських свинок – інтактний контроль. В третьому досліді ГОА-вакцини з шт. B. ovis 67/Б-1 серії 1, 2 і 3 вводили підшкірно 15 морським свинкам в об’ємі 0,5 см3 в дозі 5,0х109, 5,0х109 и 10,0х109 м. к. відповідно, 5 морським свинкам препарат не вводили (контроль). Після щеплення і зараження імунну відповідь у тварин досліджували в РТЗК, РА та РІД з бруцелаовісним антигеном. На 35 і 60 добу після вакцинації провели контрольне зараження різних груп культурою B. ovis 65939 в дозі 2,0х109 м. к. Результати дослідження свідчать (табл. 1), що у морських свинок, щеплених емульсин-вакцинами, після контрольного

**Таблиця 1**

**Протективні властивості емульсин- і ГОА-вакцин в дослідах на морських**

**свинках при контрольному зараженні культурою B. ovis 65939**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **№**  **дос-**  **ліду** | **Серія та**  **штам**  **вакцини** | **Доза**  **(м. к.)** | **Результати зараження** | | |
| **Всього тва-**  **рин (гол)** | **не зарази-**  **лося (гол)** | **заразилося**  **(гол)** |
| **1** | **Е.-в.\* cерія 1,**  **B. ovis 67/Б** | **2,5х109** | **5** | **5 (100 %)** | **–** |
| **Е.-в. cерія 2,**  **B. ovis 67/Б-2** | **2,5х109** | **5** | **5 (100 %)** | **–** |
| **Контроль** | **–** | **5** | **–** | **5 (100 %)** |
| **2** | **Е.-в. cерія 2,**  **B. ovis 67/Б-2** | **2,0х109** | **5** | **4 (80 %)** | **1** |
| **ГОА-в.\*\* c. 1,**  **B. ovis 67/Б-1** | **2,0х109** | **5** | **–** | **5** |
| **Контроль** | **–** | **5** | **–** | **5 (100 %)** |
| **3** | **ГОА-в. cерія 1,**  **B. ovis 67/Б-1** | **5,0х109** | **5** | **2 (40 %)** | **3** |
| **ГОА-в. cерія 2,**  **B. ovis 67/Б-1** | **5,0х109** | **5** | **1 (20 %)** | **4** |
| **ГОА-в. cерія 3,**  **B. ovis 67/Б-1** | **10,0х109** | **5** | **–** | **5** |
| **Контроль** | **–** | **5** | **–** | **5 (100 %)** |
| **4** | **Е.-в. cерія 5-1,**  **B. ovis 67/Б-1** | **2,5х109** | **5** | **5 (100 %)** | **–** |
| **Е.-в. cерія 5-2,**  **B. ovis 67/Б-1** | **2,5х109** | **5** | **5 (100 %)** | **–** |
| **Е.-в. cерія 5-1,**  **B. ovis 67/Б-1** | **1,0х109** | **5** | **4 (80 %)** | **1** |
| **Контроль** | **–** | **6** | **1** | **5 (83,3 %)** |

Примітка: **\* –** емульсин-вакцина; **\*\* –**  ГОА-вакцина.

зараження культурою B. ovis спостерігали незначне підвищення на 7,5-9,2 % рівня антитіл в РТЗК і РІД в порівнянні з даними показниками до зараження. В той час як у морських свинок, щеплених ГОА-вакцинами, після зараження відзначали більш виражену вторинну імунну відповідь – рівень антитіл підвіщувався на 30-50 % в порівнянні з показниками до зараження, що свідчило про розвиток інфекційного процесу.

При бактеріолічному дослідженні через 30 діб після зараження у щеплених емульсин-вакциною 14 морських свинок культура заражаючого штаму B. ovis 65939 не виділена, лише у однієї морської свинки культуру реізолювали тільки з місця введення (регіональна інфекція). Різні мікросерії ГОА-вакцини незалежно від дози бруцел в препараті показали низьку імуногенність (0-40 %) при прямому зараженні культурою збудника бруцелаовісної інфекції. В контрольних групах заразилися всі морські свинки з генералізованою формою інфекції (індекс інфікованності 36,7-80,0 %). При цьому 80-100 % морських свинок контрольних груп позитивно реагували в РТЗК в титрі 1:5-1:10.

Таким чином, одержані результати свідчать про більш високу імуногенність інактивованої бруцелаовісної вакцини, виготовленої на масляному ад’юванті, ніж при використанні гідроокисалюмінієвого ад’юванту. Імуногенна активність емульсин-вакцини зберігалася впродовж 12 місяців з часу виготовлення (строк спостереження).

В подальших двох дослідах на 10 щеплених і 8 контрольних баранах вивчили антигенні та імуногенні властивості інактивованої емульсин-вакцини з штаму B. ovis 67/Б (серія 1-1). Баранам 1 і 3-ї груп вакцину інокулювали підшкірно в дозі 5,0х109 м. к. в об’ємі 2,0 см3. Контрольним баранам 2-ї групи вводили масляний ад’ювант ВНДЯІ на 0,85 % фізіологічному розчині NaCl, а баранам 4-ї групи (контроль) вакцину не застосовували. Місцева реакція на введення вакцини проявилася у щеплених баранів появою інкапсульованих гранульом 1,2-1,8х1,5-2,0 см2, які зберігалися впродовж 7 і 13 місяців досліду (строк спостереження). У баранів, котрим вводили тільки ад’ювант, місцевої реакції не було. З метою визначення ступеню імунітету після щеплення через 6 місяців баранам 1 та 2-ї груп (дослід 1) і 12 місяців тваринам 3 та 4-ї груп (дослід 2) провели пряме зараження культурами штамів B. ovis 8406 та свіжовиділеного B. ovis 08337 шляхом аплікації на кон’юнктиву та слизову оболонку препуція в загальній дозі 6,0х109 м. к.

Поствакцинальну бруцелаовісну серопозитивність виявили у всіх баранів (дослід 1 і 2), щеплених емульсин-вакциною з штаму B. ovis 67/Б при відсутності бруцельозної серопозитивності. Бруцелаовісна серопозитивність зберігалася до 6 місяців в першому досліді: в 1-й групі титри антитіл в РА були 1:25-1:50 (1,52±0,09 lg), РТЗК 1:5-1:10 (0,40±0,03 lg), РІД 1:2-1:16 (2,62± 0,63 lоg2) з бруцелаовісним антигеном. В другому досліді через 12 місяців після щеплення у баранів 3-ї групи виявили титри в РА 1:25-1:100 (1,70±0,14 lg), РТЗК 1:10 -1:40 (1,15±0,17 lg), РІД 1:4-1:16 (2,75±0,55 lоg2). Після контрольного зараження у щеплених тварин рівень антитіл несуттєво збільшився.

У щеплених баранів рівень клітинної імунної відповіді в ОФР з інактивованою культурою B. ovis (ФЧ, ФА лейкоцитів) впродовж досліду був вище на 6-30 %, ніж у тварин контрольної групи. Позитивну алергічну реакцію на внутрішкірне введення бруцелоовіну виявили у всіх щеплених баранів на 174 добу після введення емульсин-вакцини. Через 6 і 12 місяців після щеплення повний імунітет встановлено у 100 % вакцинованих тварин (табл. 2). В контрольних групах баранів виділили заражаючу культуру B. ovis у 50-75 % тварин з індексом інфікованності 23,1-31,2 %. На 30 добу після зараження у контрольних баранів, що заразилися, при серологічному дослідженні на инфекційний епідидиміт відмічали зростання кількості позитивно реагуючих до 50-100 % тварин та підвищення титру антитіл в РТЗК 1:4-1:16 (2,04±0,81 lоg2) і РІД 1:2-1:8 (1,52±0,52 lоg2).

**Таблиця 2**

**Результати визначення імуногенності емульсин-вакцини**

**в дослідах на баранах**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Група,**  **штам**  **вакцини** | **Всього**  **тварин**  **(гол)** | **Серопози-**  **тивність**  **після**  **щеплення** | **Результати зараження** | | | **Імуні-**  **тет**  **гол (%)** |
| **Всього**  **зарази-**  **лося**  **(гол)** | **у тому числі (гол)** | |
| **виділено**  **культуру** | **постінфек-**  **ційна**  **серопо-**  **зитивність** |
|  |  |  | **Дослід 1** | |  |  |
| **Щеплені,**  **B. ovis 67/Б** | **5** | **5** | **–** | **–** | **–** | **5**  **(100 %)** |
| **Контроль** | **4** | **–** | **4** | **3** | **4** | **–** |
|  |  |  | **Дослід 2** | |  |  |
| **Щеплені,**  **B. ovis 67/Б** | **5** | **5** | **–** | **–** | **–** | **5**  **(100 %)** |
| **Контроль** | **4** | **–** | **4** | **2** | **4** | **–** |
|  |  |  | **Дослід 3** | |  |  |
| **Щеплені,**  **B. ovis**  **67/Б-1** | **4** | **4** | **–** | **–** | **–** | **4**  **(100 %)** |
| **Контроль** | **4** | **–** | **4** | **2** | **4** | **–** |

В дослідах на 25 морських свинках і 8 баранах була досліджена експериментальна серія інактивованої емульсин-вакцини проти інфекційного епідидиміту баранів із штаму B. ovis 67/Б-1 на нешкідливість, антигенність та імуногенність. В вакцині застосовували масляний ад’ювант Montanide ISA 70, який менш в’язкий, ніж масляний ад’ювант ВНДЯІ. Виготовили 2 експери-

ментальні серії 5-1 і 5-2 інактивованої емульсин-вакцини (5,0х109 м. к. бруцел в 1,0 см3) з різним вмістом (70 % і 60 %) ад’юванту. Вакцина була слабореактогенна і нешкідлива – морські свинки були живі, а на місці введення 0,5 см3 вакцин спостерігали невеликі гранульоми без некрозу тканин. Морським свинкам по 5 голів 1 і 3-ї груп ввели вакцину серія 5-1 підшкірно в дозі 0,5 і 0,2 см3 відповідно, 2-й групі – вакцину серія 5-2 в дозі 0,5 см3, контрольним тваринам – нічого не вводили. У прямій залежності від дози вакцини (0,5 або 0,2 см3) формувалися невеликі підшкірні гранульоми, які зменшувалися впродовж місяця і зберігалися до кінця досліду в вигляді дрібних ущільнень від 0,4х0,5 см2 до 0,5х0,6 см2.

Поствакцинальну бруцелаовісну серопозитивність в РТЗК і РІД з бруцела-овісним антигеном виявили у всіх щеплених морських свинок. Після контрольного зараження високою дозою B. ovis 65939-І (2,0х109 м. к.) підви-щення титру антитіл у щеплених тварин не спостерігали, хоч бруцелаовісна серопозитивність зберігалася до кінця досліду. У морських свинок, щеплених інактивованою емульсин-вакциною з штаму B. ovis 67/Б-1 (серії 5-1 і 5-2) в дозі 0,5 см3, встановлено імунітет у 100 % тварин, в той час як у тварин, щеплених дозою 0,2 см3 (серія 5-1) – у 80 %. У контрольній групі виділена культура B. ovis у 83,3 % тварин та у 66,7 % виявили серопозитивність в РТЗК і РІД.

В третьому досліді випробування антигенності та імуногенності емульсин-вакцини з штаму B. ovis 67/Б-1 с. 5-1 провели на 8 баранах. Баранам першої групи вакцину інокулювали підшкірно в дозі 1,0 см3 (5,0х109 м. к.), контроль-ним баранам 2-ї групи препарат не вводили. На місці введення вакцини у щеплених баранів з’явилися невеликі гранульоми (0,8-1,0х1,2-1,4 см2), котрі зберігалися до кінця досліду (11 місяців). Через 10 місяців після щеплення баранів заразили культурою B. ovis 65939-І шляхом аплікації на кон’юнктиву та слизову оболонку препуція 1,0 см3 суспензії 10,0х109 м. к./ см3.

На 14 добу після щеплення виявили антитіла в РТЗК (титр 1:16-1:32) і РІД з бруцелаовісним антигеном у двох з 4-х щеплених баранів, на 70 добу у всіх баранів дослідної групи відзначали збільшення титру антитіл в РТЗК до 1:4-1:64 (4,29±0,87 lоg2). Після контрольного зараження виявили зниження середньогеометричного титру антитіл в РТЗК від 5,0±0,82 lоg2 (1:8-1:16) до 2,75±0,55 lоg2 (1:4-1:16). При бактеріологічному дослідженні у щеплених баранів культуру заражаючого штаму B. ovis не виділили (табл. 2). В контроль-ній групі на 14 добу після зараження виявили антитіла в РТЗК з бруцелаовісним антигеном в титрі 1:4 у одного та в РІД у всіх чотирьох баранів. На 47 добу у двох баранів відзначали підвищення рівня антитіл в РТЗК до 1:4-1:16 (2,04±0,81 lоg2) і у чотирьох тварин в РІД до 1:2-1:8 (1,52±0,52 lоg2), що свідчило про наявність інфекційного процесу у всіх баранів. Після діагно-стичного забою та бактеріологічного дослідження вакцинованих і контрольних тварин тільки від нещеплених двох баранів реізолювали культуру B. ovis.

Слід відмітити, що в цьому досліді, як і в попередніх, при серологічному дослідженні щеплених баранів не виявили бруцельозної серопозитивності до S– антигену в РБП, РА і РЗК, що підтвердило можливість планового проведення серологічного контролю на бруцельоз тварин, щеплених інактивованою емульсин-вакциною з штаму B. ovis 67/Б та його клонів. Таким чином, зразки інактивованої емульсин-вакцини проти ІЕ баранів з масляним ад’ювантом Мontanide ISA 70 були імуногенні та слабореактогенні.

За результатами досліджень розроблено лабораторний регламент на виготовлення і контроль інактивованої емульсин-вакцини з штаму B. ovis 67/Б-1 та тимчасову настанову по її застосуванню.

**ВИСНОВКИ**

1. Вивчена стабільність культурально-морфологічних, антигенних та імуногенних властивостей вітчизняних вакцинних штамів B. abortus 7-26 і B. ovis 67/Б, розроблені параметри режиму інактивації суспензій B. abortus і B. ovis, встановлено оптимальну концентрацію мікробних клітин та ад’ювантів в вакцинних препаратах, визначено динаміку гуморальної та клітинної специфічної імунної відповіді, встановлено ступінь імуногенності інактивованих емульсин-вакцин в дослідах на морських свинках і баранах, розроблено лабораторний регламент на виготовлення і контроль інактивованої емульсин-вакцини проти інфекційного епідидиміту баранів та настанову по її застосуванню.

2. Вакцинні штами B. abortus 7-26 і B. ovis 67/Б при збереженні шляхом пересівів на щільних живильних середовищах з інтервалом 30-45 діб або в ліофілізованному стані протягом 10 років стабільні по культурально-морфологічним, антигенним та імуногенним властивостям.

3. З метою оптимізації процесу одержання інактивованої емульсин-вакцини проти інфекційного епідидиміту баранів селекційовані клони B. ovis 67/Б-1 і B. ovis 67/Б-2, що стабільно зберігають антигенні та імуногенні властивості вихідного штаму B. ovis 67/Б, але відрізняються накопиченням та більш легким змивом бактеріальної маси при вирощуванні на щільних живильних середовищах без сироватки крові тварин і без підвищенного вмісту СО2 в атмосфері культивування.

4. Бактеріальні суспензії 2-3-х добових культур B. abortus 7-26, B. ovis 67/Б та клонів B. ovis 67/Б-1, 67/Б-2 при концентрації 5,0х109 або 10,0х109 м. к./ см3 у 0,85 % розчині натрію хлориду, рН 7,2 інактивуються розчином формаліну в кінцевій концентрації 0,4 % впродовж 24 годин при 37,5±0,5О С і наступним витримуванням суспензії при 6,0±2,0О С протягом доби.

5. Кон’юнктивальний спосіб аплікації живої вакцини з штаму B. abortus 7-26 в дозі 5,0х107 м. к. створював імунітет у 100 % морських свинок після контрольного зараження штамом B. ovis 65939 в дозі 2,0х109 м. к. в порівнянні з підшкірним щепленням в дозі 25,0х107 м. к., що індукувало імунітет у 83,3-100,0 % тварин. Інактивована емульсин-вакцина з штаму B. abortus 7-26 створювала імунітет у 100 % щеплених морських свинок в дозі 25,0х106 м. к. У контрольних морських свинок заражаючий штам реізольовано у 83,3-100 % тварин, індекс інфікованності – 21,4-28,6 %.

Після щеплення живою вакциною з штаму B. abortus 7-26, бруцельозну та бруцелаовісну серопозитівність виявили в поодиноких випадках через 45 діб, у той час як застосування інактивованої емульсин-вакцини викликало високий рівень гуморальних антитіл у всіх вакцинованих морських свинок як з бруцельозним (РА – 2,70±0,11 lg, РЗК – 2,64±0,11 lg), так і з бруцелаовісним (РТЗК – 2,45±0,11 lg, РІД – 1,83±0,32 lоg2) антигенами.

6. Інактивована емульсин-вакцина з штаму B. abortus 7-26 в дозі 5,0х109 м. к. була слабореактогенною і високоімуногенною в дослідах на 67 баранах, викликала високий рівень антитіл в реакціях з бруцельозним (РБП – 4,50±0,33 lоg2, РА – 2,83±0,09 lg, РЗК – 3,10±0 lg) та з бруцелаовісним (РТЗК – 2,35±0,10 lg, РА – 2,83±0,08 lg, РІД – 5,50±0,33 lоg2) антигенами і реакцій клітинного імунітету: позитивна внутришкірна або пальпебральна проби на гіперчутливість уповільненого типу, реакція специфічного лізису лейкоцитів крові in vitro з бруцеліном (20,34±3,56 %) та бруцелоовіном (11,05±2,63 %) та активізацію фагоцитарної системи (ОФР – 95,21±0,09%).

Через 6 місяців після однократного застосування вакцини імунітет виявили у 100 % щеплених баранів при виділенні заражаючого штаму B. ovis у 88,9-100 % контрольних тварин, індекс інфікованності – 11,2-50,0 %.

7. Розроблена та випробувана в комісійних дослідах інактивована емульсин-вакцина проти інфекційного епідидиміту баранів із штаму B. ovis 67/Б та його клонів 67/Б-1, 67/Б-2 на основі масляних ад’ювантів російського і французського (Montanide ISA 70) виробництва. В дослідах на 75 морських свинках, щеплених в дозі 2,5х109 м. к., через 30-60 діб після вакцинації встановлен імунітет у 100 % тварин і в дослідах на 26 баранах, щеплених в дозі 5,0х109 м. к., через 6 і 12 місяців після щеплення виявили імунітет у 100 % тварин. Поствакцинальна бруцелаовісна серопозитивність проявлалася у всіх щеплених тварин при відсутності бруцельозної серопозитивності.

8. Розроблено лабораторний регламент на виготовлення і контроль інактивованої емульсин-вакцини з штаму B. ovis 67/Б-1 на стерильність, нешкідливість та імуногенність. Вакцину вводять підшкірно морським свинкам в дозі 0,5 см3 (2,5х109 м. к.) і баранам – в дозі 1,0 см3 (5,0х109 м. к.). Оцінка імуногенності серій вакцини: при експериментальному зараженні вакцина повинна створювати імунітет не менш як 80 % у вакцинованих тварин та інфікуванні тварин в контролі не менш 80 %.

9. Інактивована емульсин-вакцина на основі вітчизняного вакцинного штаму B. ovis 67/Б, клонів 67/Б-1 та 67/Б-2, з масляним ад’ювантом – нешкідливий, екологічно безпечний та імуногенний препарат. Застосування вакцини рекомендується на період оздоровлення вівцеферм, неблагополучних щодо інфекційного епідидиміту баранів.

**ПРАКТИЧНІ ПРОПОЗИЦІЇ**

За результатами досліджень розроблено “Лабораторний регламент на виготовлення і контроль інактивованої емульсин-вакцини проти інфекційного епідидиміту баранів“ та “Тимчасову настанову по застосуванню інактивованої емульсин-вакцини проти інфекційного епідидиміту баранів“, що розглянуті методкомісією ІЕКВМ та затверджені директором ІЕКВМ 22.04.2004 р.

Застосування інактивованої емульсин-вакцини пропонується в системі викоренення хвороби на вівцефермах, неблагополучних щодо інфекційного епідидиміту баранів. Це дозволить зменшити економічні збитки за рахунок збереження племінних баранів і скоротити строки оздоровлення.

Для оцінки імуногенності інактивованої емульсин-вакцини та вірулентності контрольного штаму запропоновано використовувати РТЗК (ТУУ 64.15.059-95), РІД (ТУУ 46.15.197-96) з бруцелаовісним антигеном та РСЛЛ з бруцеліном або бруцелоовіном.

**ПЕРЕЛІК НАДРУКОВАНИХ РОБІТ**

1. Орлов С.М. Клiтиннi реакцiї iмунiтету при iнфекцiйному епiдидимiтi у баранiв, щеплених вакцинами з штаму Бр. абортус 7-26 // Пробл. вет. медицини по обслуговуванню тваринництва колектив. та фермер. господарств: Матерiали/ Конф. молодих вчених i спецiалiстiв України, 26 жовт. 1992 р., Харків.– Х., 1992.– C.38-39.

2. Бабкiн А.Ф., Дейнеш А.А., Орлов С.М. Застосування РIД для дiагностики iнфекцiйного епiдидимiту баранiв // Вет. медицина: Мiжвiд. тематич. наук. зб.– К., 1993.– Вип. 68.– С.66-70. (Дисертантом досліджено вірулентні властивості культури B. ovis 65939 при контрольному зараженні баранів шляхом аплікації на слизову оболонку очей та препуція).

3. Орлов С.Н. Сравнительное изучение иммунного ответа на введение живой и инактивированной эмульсин-вакцины из штамма БР. АБОРТУС 7-26 против инфекционного эпидидимита баранов // Общая эпизоотология: иммунол., экол. и методол. проблемы: Материалы междунар. науч. конф., 20-22 сент. 1995 г. / ИЭКВМ.– Х., 1995.– С.312-314.

4. Бабкин А.Ф., Галищев Н.И., Орлов С.Н. Изучение инактивированной эмульсин-вакцины из различных видов бруцелл против инфекционного эпидидимита в опытах на баранах // Общая эпизоотология: иммунол., экол. и методол. проблемы: Материалы междунар. науч. конф., 20-22 сент. 1995 г. / ИЭКВМ.– Х., 1995.– С.446-448. (Дисертант вивчив імунізуючі дози інактиво-ваної емульсин-вакцини з штаму B. abortus 7-26, та приймав участь в дослідженні антигенних та імуногенних властивостей емульсин-вакцини з штаму B. ovis 67/Б проти інфекційного епідидиміту).

5. Орлов С.М. Iмуногеннiсть живої та iнактивованої вакцин з штаму B. abortus

7-26 на морських свинках при бруцелаовiснiй iнфекцiї // Вет. медицина: Мiжвiд. темат. наук. зб.– Х., 2000.– Вип. 78, Т. 1.– С.228-231.

6. Бабкин А.Ф., Орлов С.Н. Влияние адьювантов на иммуногенность инактиви-рованной бруцеллаовисной вакцины // Пробл. зооiнженерiї та вет. медицини: Зб. наук. праць / ХЗВI: Матерiали 5-го з`їзду паразитоценологiв України 5-6 квiтня 2001 р.– Х., 2001.– С.172-173. (Дисертантом вивчено в порівняльних дослідах на морських свинках імунну відповідь і протективні властивості інак-тивованих вакцин з штаму B. ovis 67Б та селекційованих клонів B. ovis 67/Б-1, 67/Б-2 проти бруцелаовісної інфекції з застосуванням різних ад’ювантів).

7. Бабкин А.Ф., Орлов С.М. Експериментальне дослідження інактивованої емульсин-вакцини з ад’ювантом Montanide ISA-70 проти бруцелаовісної інфекції // Вет. медицина: Міжвід. темат. наук. зб.– Х., 2002.– Вип. 80: 80 років ІЕКВМ.– С.47-50. (Дисертантом в досліді на морських свинках вивчено нешкідливість, антигенність та імуногенність двох серій емульсин-вакцини з штаму B. ovis 67/Б-1).

8. Орлов С.Н. Сравнительная оценка иммуногенных свойств вакцин из штамма B. abortus 7-26 против бруцеллаовисной инфекции // Вет. медицина: Мiжвiд. темат. наук. зб.– Х., 2003.– Вип. 81. – С.222-227.

9. Бабкин А.Ф., Орлов С.Н. Гиперчувствительность лейкоцитов крови баранов после введения убитых и живых культур B. abortus штамм 7-26 и B. ovis штамм 8406 // Вет. медицина: Мiжвiд. темат. наук. зб.– Х., 2003.– Вип. 82. – С.67-71. (Дисертантом досліджено стан гіперчутливості лейкоцитів крові баранів в реакції специфічного лейколізису з бруцеліном і бруцелоовіном після інокуляції інактивованої та живої культур B. abortus та B. ovis).

10. Бабкин А.Ф., Орлов С.Н. Результаты комиссионнго испытания эмульсин-вакцины из штамма B. ovis 67/Б-1 против бруцеллаовисной инфекции // Вет. медицина: Мiжвiд. темат. наук. зб.– Х., 2003.– Вип. 82. – С.72-75. (Дисертантом проведено серологічні та бактеріологічні дослідження у баранів при випробуванні емульсин-вакцини з штаму B. ovis 67/Б-1).

11. Бабкин А.Ф., Орлов С.Н. Результаты изучения инактивированной эмульсин-вакцины из штамма B. ovis 67/Б против инфекционного эпидидимита баранов // Вет. медицина: Мiжвiд. темат. наук. зб.– Х., 2004.– Вип. 84. – С.58-64. (Дисертантом досліджено антигенні та імуногенні властивості 5 експери-ментальних серій інактивованої емульсин-вакцини з штаму B. ovis 67/Б та селекційованих клонів B. ovis 67/Б-1, 67/Б-2 в дослідах на морських свинках та баранах).

12. Пат. 51379 А UA, MKI 7 А61К39/10. Штам Brucella ovis 67/Б для виготовлення інактивованої емульсин-вакцини проти інфекційного епідидиміту баранів: Пат. 51379 А UA, MKI 7 А61К39/10/ А.Ф. Бабкін, С.М. Орлов, М.Г. Галіщев; Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини. – № 2002031887; Заявл. 07.03.2002; Опубл. 15.11.2002; Бюл. № 11.

13. Пат. 53940 А UA, MKI 7 А61К39/10. Інактивована емульсин-вакцина з штаму Brucella ovis 67/Б проти інфекційного епідидиміту баранів: Пат. 53940 А UA, MKI 7 А61К39/10/ А.Ф. Бабкін, С.М. Орлов, М.Г. Галіщев; Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини. – № 2002032280; Заявл. 22.03.2002; Опубл. 17.02.2003; Бюл. № 2.

14. Орлов С.Н., Бабкин А.Ф. Лабораторные опыты по изучению живой и инактивированной вакцин из штамма Б. абортус 7-26 при инфекционном эпидидимите // Повышение продуктивности с.-х. животных и совершен-ствование мер борьбы с болезнями в условиях интенсивного ведения животноводства и создания фермер. хозяйств: Тез. докл. / Всесоюз. науч. конф., 17-22 сент. 1991 г., посвящ. 140-летию ХЗВИ.– Х., 1991.– С.135. (Дисертантом вивчено гуморальну імунну відповідь у морських свинок після щеплення живої та інактивованої вакцин з штаму B. abortus 7-26 і протективні властивості після зараження культурою B. ovis).

**Орлов С.М. Імуногенність і антигенність інактивованих емульсин-вакцин проти інфекційного епідидиміту баранів із штамів Brucella abortus та Brucella ovis. - Рукопис.**

*Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальностю 16.00.03 - ветеринарна мікробіологія та вірусологія, Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини УААН, Харків, 2004.*

Дисертація присвячена виготовленню та дослідженню нешкідливості, антигенності та імуногенності інактивованих емульсин-вакцин проти інфекційного епідидиміту баранів із штамів Brucella abortus та Brucella ovis, визначенню поствакцинальної і постінфекційної гуморальної та клітинної імунної відповіді. Встановлено, що вітчизняні вакцинні штами B. abortus 7-26 і B. ovis 67/Б при збереженні шляхом пересівів на щільних живильних середовищах з інтервалом 30-45 діб або в ліофілізованному стані протягом 10 років стабільні по культурально-морфологічним, антигенним та імуногенним властивостям. З метою оптимізації процесу одержання інактивованої емульсин-вакцини селекційовані клони B. ovis 67/Б-1 і B. ovis 67/Б-2, адаптовані до культивування на МППГГА без сироватки крові тварин та збільшеної концен-трації СО2. Виготовлено і досліджено 17 мікросерій вакцини проти ІЕ баранів.

Показано, що кон’юнктивальний спосіб аплікації живої вакцини з штаму B. abortus 7-26 в дозі 5,0х107 м. к. створював імунітет у 100 % морських свинок в порівнянні з підшкірним введенням вакцини в дозі 25,0х107 м. к. (83,3-100 %) з нетривалим виявленням антитіл до бруцельознього та бруцелаовісного антигенів. Інактивована емульсин-вакцина з цього штаму захищала всіх морських свинок, щеплених підшкірно в дозі 25,0х106 м. к., при контрольному зараженні культурою B. оvis. В дослідах на баранах вакцина в дозі 5,0х109 м. к. була слабореактогенною і високоімуногенною (захист 100 % тварин), викли-кала високий рівень антитіл до бруцельозного та бруцелаовісного антигенів і реакцій клітинного імунітету: позитивна внутришкірна або пальпебральна проби на гіперчутливість уповільненого типу, реакція специфічного лізису лейкоцитів крові in vitro з бруцеліном (20,34±3,56 %) та бруцелоовіном (11,05±2,63 %) та активізацію фагоцитарної системи (ОФР – 95,21±0,09%).

В комісійних дослідах випробувана інактивована емульсин-вакцина проти інфекційного епідидиміту баранів із штаму B. ovis 67/Б та його клонів 67/Б-1, 67/Б-2 на основі масляних ад’ювантів російського і французського (Montanide ISA 70) виробництва. В дослідах на морських свинках, щеплених в дозі 2,5х109 м. к., та в дослідах на баранах, щеплених в дозі 5,0х109 м. к., встановлено імунітет у 100 % тварин, який зберігався у щеплених баранів впродовж 12 місяців (строк спостереження). Поствакцинальна бруцелаовісна серопозитивність проявлалася у всіх щеплених тварин при відсутності бруцельозної серопозитивності.

**Ключові слова:** інфекційний епідидиміт баранів, вакцинні штами, Brucella abortus, Brucella ovis, жива та інактивована вакцини, ад’ювант, реакції імунітету, антиген, антитіло.

**Орлов С.Н. Иммуногенность и антигенность инактивированных эмульсин-вакцин против инфекционного эпидидимита баранов из штаммов Brucella abortus и Brucella ovis. ⎯ Рукопись.**

*Диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 16.00.03 - ветеринарная микробиология и вирусология, Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины УААН, Харьков, 2004.*

Диссертация посвящена изготовлению и изучению безвредности, антигенности и иммуногенности инактивированных эмульсин-вакцин против инфекционного эпидидимита баранов из штаммов Brucella abortus и Brucella ovis, исследованию поствакцинального и постинфекционного гуморального и клеточного иммунного ответа. Установлено, что отечественные вакцинные штаммы B. abortus 7-26 и B. ovis 67/Б при хранении путем пересевов на твердых питательных средах с интервалом 30-45 суток или в лиофили-зированном состоянии в течение 10 лет стабильны по культурально-морфологическим, антигенным и иммуногенным свойствам. С целью оптими-зации процесса получения инактивированной эмульсин-вакцины селекционированы клоны B. ovis 67/Б-1 и B. ovis 67/Б-2, культивируемые на МППГГА без сыворотки животных и повышенной концентрации СО2. Изготовлено и изучено 17 микросерий вакцины против ИЭ баранов.

Показано, что коньюнктивальный способ аппликации живой вакцины из штамма B. abortus 7-26 в дозе 5,0х107 м. к. создавал иммунитет у 100 % морских свинок в сравнении с подкожным введением в дозе 25,0х107 м. к. (83,3-100 %) при кратковременном выявлении антител к бруцеллезному и бруцеллаовисному антигенам. Инактивированная эмульсин-вакцина из этого штамма защищала всех морских свинок, привитых подкожно в дозе 25,0х106 м. к., при контрольном заражении культурой B. оvis. В опытах на баранах вакцина в дозе 5,0х109 м. к. была слабореактогенной и высокоиммуногенной (защита 100 % животных), вызывала высокий уровень антител в реакциях с бруцеллезным и бруцеллаовисным антигенами и реакций клеточного иммунитета: положительные внутрикожная или пальпебральная пробы гиперчув-ствительности замедленного типа, реакция специфического лизиса лейкоцитов крови in vitro с бруцеллином (20,34±3,56 %) и бруцеллоовином (11,05±2,63 %) и активизацию фагоцитарной системы (ОФР – 95,21±0,09%).

В комиссионных опытах испытана инактивированная эмульсин-вакцина против инфекционного эпидидимита баранов из штамма B. ovis 67/Б и его клонов 67/Б-1, 67/Б-2 на основе масляных адъювантов российского и французского (Montanide ISA 70) производства. В опытах на морских свинках, привитых в дозе 2,5х109 м. к., и в опытах на баранах, вакцинированных в дозе 5,0х109 м. к., установлен иммунитет у 100 % животных, который сохранялся у привитых баранов в течение 12 месяцев (срок наблюдения). Поствакцинальная бруцеллаовисная серопозитивность проявлалася у всех привитих животных при отсутствии бруцеллезной серопозитивности.

Разработаны лабораторный регламент на изготовление и контроль инактивированной эмульсин-вакцины против инфекционного эпидидимита баранов и временное наставление по ее применению. Вакцина не вызывает бруцеллезной серопозитивностью у привитых животных, что позволяет контролировать вакцинированные отары на бруцеллез. Применение вакцины позволит снизить экономические ущерб за счет сохранения племенных баранов, и сократить сроки оздоровления овцеводческих хозяйств, неблагопо-лучных по бруцеллаовисной инфекции.

**Ключевые слова:** инфекционный эпидидимит баранов, вакцинные штаммы, Brucella abortus, Brucella ovis, живая и инактивированная вакцины, адъювант, реакции иммунитета, антиген, антитело.

**Orlov S.N. Immunogenicity and antigenicity of inactivative emulsin-vaccines against Brucella ovis infection from strains Brucella abortus and Brucella ovis. - Manuscript.**

*The dissertation for the Candidate's degree of the Veterinary Sciences on the speciality 16.00.03 - veterinary microbiology and virology, Institute of experimental and clinical veterinary medicine of UAAS, Kharkov, 2004.*

The dissertation is devoted to manufacturing and studying of harmlessness, antigenicity and immunogenicity of inactivative emulsin-vaccines against Brucella ovis infection from strains Brucella abortus and Brucella ovis, to research postvaccinal both postinfectious serological and the cellular immune answer at Brucella ovis infection. It is established, that domestic vaccinal strains B. abortus 7-26 and B. ovis 67/B at storage by sowing on firm nutrient mediums with an interval of 30-45 day or in freeze drying a condition within 10 years are stable on cultural-morphological, antigenic and immunogenic to properties. With the purpose of optimization of process of reception inactivative emulsin-vaccines select clones B. ovis 67/B-1 and B. ovis 67/B-2, cultivated on brucellosis environment without whey of animals and raised concentration carbonic acid.

It is shown, that conjunctival a way of application of an alive vaccine from strain B. abortus 7-26 in a doze 5,0х107 b. c. created immunity at 100 % of guinea pigs in comparison with hypodermic introduction in a doze 25,0х107 b. c. (83,3-100 %) at short-term increase of antibodies to brucellosis and brucella-ovis to antigenes. Inactivative emulsin-vaccine from this strain protected all guinea pigs, vaccinated hypodermically in a doze 25,0х106 b. c., at control infection with culture B. оvis. In experiences on rams this vaccine in a doze 5,0х109 b. c. was weak immunereactivity and high immunogenic (protection of 100 % of animals), caused a high level of antibodies in reactions with brucellosis and brucella-ovis antigenes, and cellular reactions of immunity: positive intradermal test of hypersensitivity of the slowed down type and reaction specific lysis leukocytes of blood with brucelline (20,34±3,56 %) and brucelloovine (11,05±2,63 %), activization phagocytic systems (ОPR - 95,2±10,09 %).

In commission experiences the inactivative emulsin-vaccine against Brucella ovis infection from strain B. ovis 67/B and his clones 67/B-1, 67/B-2 is tested on the basis of oil adjuvantes Russian and French (Montanide ISA 70) manufactures. In experiences on guinea pigs, vaccinated in a doze 2,5х109 b. c., and in experiences on rams, vaccinated in a doze 5,0х109 b. c., immunity at 100 % of animals which was kept at vaccinated rams within 12 months is established. Postvaccinal brucella-ovis positive serology manifestation at all vaccinated animals at absence brucellosis positive serology.

**Key words:** Brucella ovis infection, vaccinal strains, Brucella abortus, Brucella ovis, alive and inactivative vaccines, adjuvant, reactions of immunity, antigen, antibody.

Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>