

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ СПЛИТ-КОНЬЮГИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ НА МЕЛКОМ РОГАТОМ СКОТЕ

ВЕСЕЛОВСКИЙ Степан Юрьевич, Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова

АГОЛЬЦОВ Валерий Александрович, Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова

ПОПОВА Ольга Михайловна, Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова

Проведено исследование проб крови мелкого рогатого скота на бруцеллез различными серологическими реакциями при испытании сплит-конъюгированной вакцины против бруцеллеза животных спустя 3,5, 4,5 и 9 месяцев после иммунизации. Положительно реагировал мелкий рогатый скот на бруцеллез в реакции связывания комплемента и реакции агглютинации – 40,7 %, а в Роз-Бенгал пробе – 44,4 % спустя 3,5 месяца после вакцинации. Вакцина обладает высокой иммуногенностью в отношении коз. Достаточно высокий титр антител в крови спустя 3,5 месяца после вакцинации при исследовании реакцией агглютинации и Роз-Бенгал пробой выявлялся у 83,3 % животных, а в реакции связывания комплемента – 66,7 %, что позволит эффективно использовать эту вакцину в борьбе с бруцеллезом коз. Иммунизированные овцы в реакции связывания комплемента и Роз-Бенгал пробе положительно реагировали лишь в 33,3 % случаев. Спустя 9 месяцев после вакцинации сплит-конъюгированной вакциной во всех пробах крови мелкого рогатого скота не оказалась ни одной положительной пробы. Это свидетельствует об исчезновении комплементсвязывающих и агглютинирующих антител из кровяного русла животных. Тем самым представляется возможность дифференцировать поствакцинальные антитела в сыворотке крови животных от постинфекционных в случае их обнаружения в указанный срок.

Введение. В последние годы против бруцеллеза мелкого рогатого скота применяется живая сухая вакцина из штамма *Brucella melitensis* REV-1. Поскольку эта вакцина является живой, то в ряде случаев она может создавать благоприятные условия для поддержания эпизоотического неблагополучия в местах с активным ее применением. Кроме того, возникают сложности в лабораторной дифференциации поствакцинальных от постинфекционных антител [1, 3]. Поэтому огромное значение имеет разработка инактивированных вакцин, которые в силу своей безвредности для организма животных не смогут повлиять на поддержание неблагополучного эпизоотического состояния хозяйства или населенного пункта, а это, в свою очередь, поможет в кратчайшие сроки купировать и ликвидировать бруцеллез [5]. Инактивированные вакцины, такие как испытываемая нами сплит-конъюгированная вакцина против бруцеллеза животных, не формируют длительный высокий титр антител в сыворотке крови животных. Поэтому можно через небольшие сроки после ее введения проводить дифференциацию поствакцинальных антител от постинфекционных.

Безвредность этой вакцины также позволяет применять ее без соблюдения особых правил безопасности, в том числе и в случае попадания на слизистые оболочки и кожу ветеринарных работников [2, 7]. Молоко овцематок и другие продукты питания после вакцинации животных не принесут вреда здоровью людей [8]. Инактивированные вакцины можно применять на любых

сроках суягности, что позволит ликвидировать бруцеллез быстро и в любое время года [9, 10].

Цель данной работы – определить степень иммуногенности сплит-конъюгированной вакцины против бруцеллеза животных различными серологическими реакциями на мелком рогатом скоте.

Методика исследований. Серологические исследования проб крови животных, привитых сплит-конъюгированной вакциной, проводили в 2017 г. в крестьянском хозяйстве «Айнат» Мугалжарского р-на Актюбинской обл. (Республика Казахстан). Было вакцинировано 40 голов мелкого рогатого скота, в число которых входили ярки 2016 г. рождения, баран-производитель, валухи, козы и козлы 2016 г. рождения. В опыте не использовались суягные овцематки.

Сплит-конъюгированную вакцину против бруцеллеза животных вводили подкожно в среднюю треть шеи в дозе 0,5 мл. Перед применением ее растворяли с помощью иммунопротектора [4]. Иммунопротектор полипептид-С был получен из активированных клеток селезенки теленка, состоял из смеси пептидов-активаторов В-клеток с последующей конъюгацией с антигенами бруцелл. Место введения вакцины предварительно выстригали и обрабатывали 70%-м раствором спирта.

Кровь исследовали в ветеринарной лаборатории Мугалжарского р-на в реакции агглютинации (РА), Роз-Бенгал пробой (РБП) и реакцией связывания комплемента (РСК). Оценку полученных результатов серологических исследований проводили согласно [6]. Серологические ис-





следования проводили через 3,5; 4,5 и 9 месяцев после введения экспериментальной сплит-конъюгированной противобруцеллезной вакцины.

Результаты исследований. Результаты серологических исследований (РА, РСК и РБП) проб крови мелкого рогатого скота после иммунизации сплит-конъюгированной вакциной против бруцеллеза животных представлены в табл. 1.

Таблица 1

Результаты серологических исследований проб крови мелкого рогатого скота после иммунизации сплит-конъюгированной вакциной против бруцеллеза животных

Срок исследований	Исследовано, гол.	Положительно реагировали, гол.		
		РА	РСК	РБП
Через 3,5 мес.	27	11	11	12
Через 4,5 мес.	21	7	2	6
Через 9 мес.	15	0	0	0

По данным, представленным в табл. 1, построена диаграмма, которая наглядно в динамике демонстрирует изменения, происходящие в крови животных (рис. 1).

Спустя 3,5 месяца после вакцинации при исследовании проб крови с помощью РА выявлено 40,7 % иммунных животных. Это свидетельствует о том, что гуморальный иммунный ответ на введение вакцины не продолжительный. Через 4,5 месяца после вакцинации отмечено последующее снижение иммунных животных. Через 9 месяцев после вакцинации ни у одного животного не обнаруживали агглютинины, что, по нашему мнению, является положительным фактором, поскольку отсутствие антител спустя такое время после вакцинации позволяет дифференцировать вакцинированных животных от больных.

Через 3,5 месяца после вакцинации мелкого рогатого скота при исследовании проб крови в РСК также выявлено 40,7 % иммунных животных, а через 4,5 месяца лишь 9,5 %. Это свидетельствует о том, что после введения вакцины наряду с агглютинами также образуются и комплементсвязывающие антитела. Через 9 месяцев после вакцинации комплементсвязывающие антитела в крови животных отсутствовали.

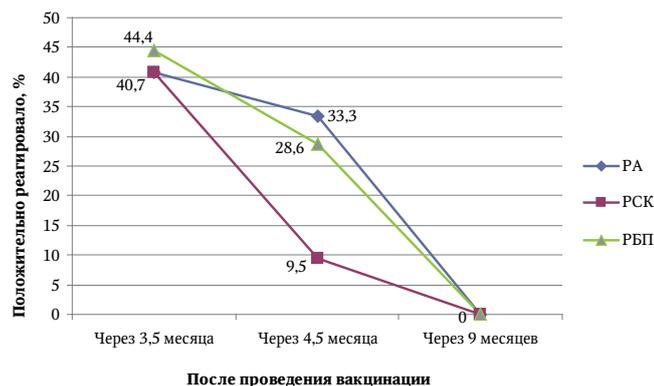


Рис. 1. Сравнительная оценка использования различных серологических методов исследований мелкого рогатого скота после вакцинации в динамике

Через 3,5 месяцев после вакцинации при исследовании проб крови мелкого рогатого скота с помощью РБП выявлено 44,4 % иммунных животных, что несколько выше, чем в РА и в РСК. Через 4,5 месяца после вакцинации у 28,6 % животных были выявлены антитела, а через 9 месяцев их уже не обнаруживали, как и при использовании предыдущих реакций.

На основании полученных данных был построен общий сравнительный график, отображающий положительную реакцию животных после вакцинации при использовании различных серологических методов исследований на противобруцеллезные антитела.

При исследовании крови мелкого рогатого скота на бруцеллез через 3,5 месяца различными серологическими методами формируются комплементсвязывающие антитела и агглютинины у 40,7 % животных. Положительные результаты в РБП были получены в 44,4 % случаев. Постепенно титр антител падал и спустя 9 месяцев всеми вышеперечисленными реакциями антитела не обнаруживались.

Сравнительные результаты серологических исследований проб крови после иммунизации животных сплит-конъюгированной вакциной представлены в табл. 2.

Таблица 2

Результаты серологических исследований проб крови мелкого рогатого скота в различные сроки после вакцинации

Срок исследований	Исследовано, гол.	Положительно реагировали, гол.						
		КОЗЫ			Исследовано, гол.	ОВЦЫ		
		РА	РСК	РБП		РА	РСК	РБП
Через 3,5 мес.	6	5	4	5	21	6	7	7
Через 4,5 мес.	6	3	1	3	15	4	1	3
Через 9 мес.	5	0	0	0	10	0	0	0

На основании данных табл. 2 составлены графики отдельно по видам животных (рис. 2, 3).

Спустя 3,5 месяца после вакцинации при использовании РА и РБП выявлено 83,3 % иммунных коз, что вдвое больше, чем мелкого рогатого скота (овец и коз) в общем. Эти данные свидетельствуют о том, что у подавляющего большинства коз вырабатываются антитела агглютинины, отмечена положительная оценка в РБП. Спустя 4,5 месяца после вакцинации выявлено естественное снижение положительно реагирующих коз до 50 %. Через 9 месяцев у всех исследуемых коз были получены отрицательные результаты. По истечении 3,5 месяца после вакцинации выявлено 66,7 % положительно реагирующих в РСК животных. Спустя 4,5 месяца после вакцинации в РСК положительно реагировали 16,7 %, а через 9 месяцев результат был отрицательным.

Данные, представленные на рис. 3, свидетельствуют о том, что спустя 3,5 месяца после вакцинации при исследовании крови с помощью

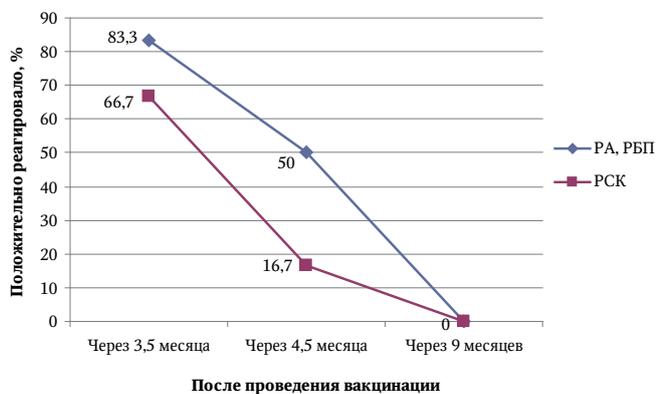


Рис. 2. Сравнительная оценка использования различных серологических методов исследований коз после вакцинации в динамике

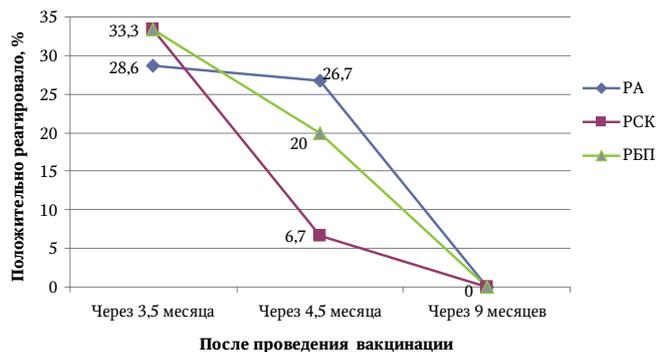


Рис. 3. Сравнительная оценка использования различных серологических методов исследований овец после вакцинации в динамике

РА положительно реагировало 28,6 % овец, что гораздо ниже показателей коз за аналогичный промежуток времени. При повторном исследовании проб крови овец спустя 4,5 месяца после вакцинации титр агглютининов незначительно снизился и составил 26,7 %, а через 9 месяцев после вакцинации положительных проб крови овец на бруцеллез не обнаружено.

При исследовании проб крови овец спустя 3,5 месяца после вакцинации в РСК антитела были обнаружены у 33,3 % животных, 4,5 месяца – у 6,7 %; через 9 месяцев вообще не выявлялись.

При исследовании проб крови овец с помощью РБП спустя 3,5 месяца после вакцинации получен аналогичный результат – 33,3 %. Несколько отличался результат, полученный через 4,5 месяца после вакцинации, так как положительно реагировало 20 % овец. Через 9 месяцев, как и в других серологических реакциях, во всех пробах крови овец был получен отрицательный результат.

У иммунизированных сплит-конъюгированной вакциной овец комплементсвязывающие антитела и агглютинины в диагностическом титре находятся по сравнению с козами менее продолжительное время.

Заключение. При исследовании крови мелкого рогатого скота различными серологическими реакциями иммунных животных было в реакции связывания комплемента и реакции агглютинации 40,7 %, а при использовании Роз-Бенгал пробы 44,4 %.

Сплит-конъюгированная вакцина против бруцеллеза животных обладает высокой иммуногенностью в отношении коз, титр антител спустя

3,5 месяца после вакцинации в реакции агглютинации и Роз-Бенгал пробы составил 83,3 %, а в реакции связывания комплемента – 66,7 %. Это позволит эффективно использовать вакцину в борьбе с бруцеллезом этого вида животных.

Доля иммунизированных овец в реакции связывания комплемента и при Роз-Бенгал пробе составила 33,3 %, а в реакции агглютинации 28,6 % через 3,5 месяца после вакцинации. С целью увеличения количества иммунных животных мы рекомендуем находить иммунопротекторы, способные усиливать гуморальный иммунный ответ овец на введенный антиген испытываемой вакцины.

Спустя 9 месяцев после вакцинации сплит-конъюгированной вакциной против бруцеллеза ни одно животное не оказалось иммунизированным. Это свидетельствует об исчезновении антител из кровяного русла спустя время. В результате предоставляется возможность дифференцировать поствакцинальные антитела в сыворотке крови животных от постинфекционных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Альбертян Н.П., Искандаров М.И., Федоров А.И. Вакцины против бруцеллеза: прошлое, настоящее и будущее // Сельскохозяйственные животные. – 2006. – № 4. – С. 10–11.
2. Аракелян П.К., Димов С.К. Оптимизация мероприятий при бруцеллезе сельскохозяйственных животных в современных условиях // Ветеринария. – 2013. – № 4. – С. 23–26.
3. Веселовский С.Ю., Частов А.А., Агольцов В.А. Изучение реактогенных и иммуногенных свойств вакцины против бруцеллеза из штамма *Brucella abortus* KV 17/100, с масляным адьювантом на крупном рогатом скоте и верблюдах // Научная жизнь. – 2016. – № 1. – С. 129–137.
4. Канатбаев С.Г., Тен В.Б., Нысанов Е.С. Использование иммуномодуляторов при бруцеллезе животных // Западно-Казахстанская науч.-исслед. вет. станция, ТОО «КазНИВИ» // Ветеринария сегодня. – 2013. – № 4. – С. 45–48.
5. Литвинов О.Б., Девришов Д.А., Янышев А.А. Бруцеллез в России // Ветеринарная жизнь. – 2007. – № 2. – С. 14.
6. Наставление по диагностике бруцеллеза животных от 29 сентября 2003 г. №13-5-02/0850 // Consultant.ru.
7. Попова Т.Г., Новицкий А.А., Колычев Н.М. Эпизоотологические и экологические аспекты специфической профилактики бруцеллеза // Ветеринария. – 2012. – № 2. – С. 24–26.
8. Экспериментальное применение сплит-конъюгированной вакцины против бруцеллеза животных на крупном рогатом скоте / С.В. Веселовский [и др.] // Аграрный научный журнал. – 2018. – № 6. – С. 3–6.
9. Luo D. Y. The DNA vaccine encoding L7 / L12-P39 *Brucella abortus* induces protective immunity in BALB / c mice // Chinese Medical Journal, 2006, Vol. 4, pp. 331–334.
10. Pikula J. Ecology of *brucellosis* of the European hare in the Czech Republic. / J. Pikula // Veterinary Medicine. – Czech, 2005, Vol. 50. (3), P. 105–109.

Веселовский Степан Юрьевич, канд. вет. наук, ассистент кафедры «Болезни животных и ветеринарно-санитарная экспертиза», Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова. Россия.





Агольцов Валерий Александрович, д-р вет. наук, проф. кафедры «Болезни животных и ветеринарно-санитарная экспертиза», Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова. Россия.

Попова Ольга Михайловна, д-р биол. наук, доцент, зав. кафедрой «Технология продуктов питания», Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова. Россия.

410012, г. Саратов, Театральная пл., 1.
Тел.: (8452) 23-32-92; e-mail: popova@yandex.ru.

Ключевые слова: бруцеллез; сплит-конъюгированная вакцина; овцы, козы; реакция агглютинации (РА); Роз-Бенгал проба (РБП); реакция связывания комплемента (РСК); титры противобруцеллезных антител.

EXPERIMENTAL APPLICATION OF A SPLIT-CONJUGATED VACCINE AGAINST ANIMAL BRUCELLOSIS IN SMALL CATTLE

Veselovskiy Stepan Yuryevich, Candidate of Veterinary Sciences, Assistant of the chair "Animal Diseases and Veterinary-Sanitary Inspection", Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov. Russia.

Agoltsov Valery Aleksandrovich, Doctor of Veterinary Sciences, Professor of the chair "Animal Diseases and Veterinary-Sanitary Inspection", Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov. Russia.

Popova Olga Mihailovna, Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Head of the chair "Food Technology", Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov. Russia.

Keywords: brucellosis; split-conjugated vaccine against animal brucellosis; sheep; goats; agglutination test (RA); Rose-Bengal probe; complement fixation reaction (RSK); anti-brucellosis antibody titres.

A study was made of the blood samples of small cattle for brucellosis with various serological reactions when testing a split-conjugated vaccine against animal brucellosis three and a half, four and a half months and nine months after immunization. Positive reaction of small cattle to brucellosis in the complement fixation reaction and the agglutination reaction of 40.7% of sheep and goats, and 44.4% of animals in Ros-Bengal after

3.5 months of vaccination. The vaccine has a high immunogenicity against goats, a high enough antibody titer in blood three and a half months after vaccination, when tested with agglutination and Rose-Bengal, breakdown was detected in 83.3% of animals, and in the complement fixation reaction it was 66.7%, which will, in our opinion, effectively use this vaccine in the fight against goat brucellosis. Immunized sheep in the complement-fixation reaction and Rose-Bengal assay reacted positively only in 33.3% of cases. When the agglutination reaction was established three and a half months after the introduction of the vaccine - in 28.6% of the animals, in connection with the data obtained, we recommend looking for new immunoprotectors capable of enhancing the humoral immune response of sheep to the antigen of the tested anti-brucellosis vaccine. Nine months after the vaccination of the split-conjugated vaccine in all blood samples of small cattle (sheep and goats) with all of the above reactions, there was no positive test, which indicates the disappearance and complement-binding and agglutinating antibodies from the bloodstream of animals, and thus the opportunity is given differentiate postvaccinal antibodies in the blood serum of animals, from post-infection, in the case of their detection within the time specified above.

DOI

УДК 579.62

НАНОЧАСТИЦЫ СЕЛЕНА И МИЦЕЛЛЫ АНТИГЕНОВ ППД – СРЕДСТВА ПРОФИЛАКТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА

ВИДЯГИНА Олеся Сергеевна, Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова

Изучены адъювантные свойства мицелл неионогенного детергента Triton X-114 и липидов кишечной палочки, а также наночастиц селена при иммунизации антигенами диагностического препарата туберкулина (ППД). Исследовали образование антител против ППД и клеток *Mycobacterium bovis* BCG при иммунизации белых мышей указанными конструкциями в сравнении с иммунизацией ППД, используя метод непрямого дот-иммуноанализа, а также иммунотурбидиметрически. Иммунизация мышей мицеллами липида *E. coli* Б-5 или Triton X-114, несущими ППД, приводит к более высокому образованию антител против антигенов туберкулина, чем при иммунизации самим ППД. Иммунизация всеми препаратами, включая ППД, приводит к образованию антител, распознающих клетки *M. bovis* BCG, однако наиболее высокие титры антител наблюдаются в плазмах крови животных, получавших мицеллы липида *E. coli* Б-5 или Triton X-114. Полученные результаты свидетельствуют о возможности использования мицелл и наночастиц селена в качестве адъюванта для иммунизации антигенами микобактерий.

Введение. Туберкулопротеин (ППД) – аллерген микобактерий, представляющий собой смесь фильтратов культур микобактерий человеческого и бычьего типов, используемый для выявления заболевания туберкулезом человека и животных. В онлайн-базе референсных последовательностей протеинов UniProtKB [20] фигурирует целое семейство из 7 туберкулиноподобных протеинов (tuberculin related protein, tuberculin-like protein, tuberculin-active protein) молекулярных масс от 14,8 до 27,8 kDa, пять из которых имеют предсказанный трансмембранный домен. Наличие

трансмембранных доменов позволяет использовать в качестве адъювантов неионогенные детергенты и структурные мембранные фосфолипиды.

Для сольубилизации гидрофобных антигенов предложены мицеллы на основе коммерческих детергентов Cremophor EL и RH [8]. В качестве мицеллообразователя (носителя липофильных антигенов) возможно использование также неионогенного детергента Triton X-114, способного избирательно сорбировать липопротеиды разной природы [11].

Липосомы на основе фосфолипида мембран – лецитина – с добавлением холестерина давно