



РЕАКТОГЕННЫЕ, АНТИГЕННЫЕ И ИММУНОГЕННЫЕ СВОЙСТВА КУЛЬТУРЫ ИЗ ШТ. B.SUIS 61 В ОПЫТАХ НА МОРСКИХ СВИНКАХ

Е. С. СЛЕПЦОВ,
доктор ветеринарных наук, профессор,
Н. В. ВИНОКУРОВ,
кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник,
Г. Г. ЕВГРАФОВ,
кандидат ветеринарных наук, научный сотрудник,
Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства
(677001, г. Якутск, ул. Б-Марлинского, д. 23/1; тел.: 7 (4112) 21-45-74).

Ключевые слова: бруцеллез, инфекционный процесс, иммунитет, штамм, эпизоотический процесс, вакцина.

В статье изложены результаты реактогенных, антигенных и иммуногенных свойств культуры из штамма B.suis 61 в опытах на морских свинках, проведенных в лаборатории по эпизоотологии, диагностики и профилактики бруцеллеза ВИЭВ и в лаборатории инфекционных и инвазионных болезней оленей (Якутский НИИСХ). По первому опыту при проведении бактериологического исследования показали, что культура бруцелл вакцинного штамма B.suis 61 задерживается только в лимфатических узлах морских свинок. При этом более широко и на более продолжительное время она персистирует у животных, привитых подкожным методом (через 30 дней она выделена от всех животных при ИИ = 65,7 %, а через 60 дней от 40 % животных при ИИ = 6,8 %). При пероральном методе введения было получено через 30 дней только 6 культур вакцинного штамма B.suis 61 из лимфатических узлов 75 % животных (ИИ = 16,6 %), а через 60 дней – из 5 животных, только от одной морской свинки (20 %), была выделена одна культура из подчелюстного лимфатического узла (ИИ = 2,2 %). По второму опыту привитые культурой вакцинного штамма B.suis 61 независимо от метода иммунизации противостояли экспериментальному заражению вирулентной культурой бруцелл. В группах морских свинок, привитых вакциной из штамма B.melitensis REV-1, количество иммунных также было высоким, однако преимущество следует отдать конъюнктивальному методу, при котором все животные противостояли заражению. Положительные результаты изучения основных свойств культуры вакцинного штамма B.suis 61 в лабораторных опытах на морских свинках послужили основанием для изготовления опытной серии сухой вакцины из этого штамма и изучения её реактогенных, антигенных и иммуногенных свойств в опытах на овцах и северных оленях.

REACTOGENIC, ANTIGENIC AND IMMUNOGENIC PROPERTIES OF THE STRAIN B.SUIS 61 IN THE EXPERIMENTS ON GUINEA PIGS

Е. С. SLEPTSOV,
doctor of veterinary science, professor,
N. V. VINOKUROV,
candidate of veterinary science, senior researcher,
G. G. EVGRAFOV,
candidate of veterinary science, senior researcher, Yakut scientific research institute of agriculture
(677001, Yakutsk, B-Marlinskogo st., 23/1; tel.: 7 (4112) 21-45-74).

Keywords. Brucellosis, infection process, immunity, strain, epizootic process, vaccine, reindeer.

The article presents the results of reactogenic, antigenic and immunogenic properties of the culture of the strain B.suis 61 in experiments on guinea pigs conducted in the laboratory of epizootology, diagnosis and prevention of brucellosis of Russian Institute of Experimental Veterinary Medicine and in the laboratory of infectious and parasitic diseases of reindeer of Yakut Scientific Research Institute of Agriculture. The first experiment during bacteriological studies has shown that the culture of Brucella vaccine strain B.suis 61 is delayed only in the lymph nodes of guinea pigs. Thus wider and longer time it persists in animals inoculated subcutaneously (after 30 days it is selected from all animals at Incidence Index (II) = 65.7 %, and after 60 days from 40 % of animals when II = 6.8 %). At peroral introduction method it was obtained after 30 days only six cultures of vaccine strain B.suis 61 of lymph nodes from 75 % of the animals (II = 16.6 %) and after 60 days – of 5 animals, only one of guinea pigs (20 %) was isolated one culture from submandibular lymph node (II = 2.2 %). In the second experiment vaccinated animals with culture of vaccine strain B.suis 61 regardless of the method of immunization, opposed to experimental infection by virulent Brucella culture. In groups of guinea pigs vaccinated with the vaccine from strain B.melitensis REV-1, number of immune was also high, but the advantage should be given to the conjunctival method, in which all the animals resisted infection. Positive results of a study of the basic properties of culture of vaccine from strain B.suis 61 in laboratory experiments on guinea pigs were the basis for the production of a pilot series of dry vaccine from this strain and study it reactogenic, antigenic and immunogenic properties in experiments on sheep and reindeer.

Положительная рецензия представлена И. И. Бочкаревым, профессором, академиком, заведующим кафедры паразитологии и эпизоотологии животных Якутской государственной сельскохозяйственной академии.



Бруцеллез северных оленей на Азиатском Севере Российской Федерации имеет широкое распространение и является значительным сдерживающим фактором дальнейшего развития оленеводства. Возбудитель бруцеллёза северных оленей по своим культурально-морфологическим, тинкториальным и биохимическим свойствам относится к 4 биовару вида *B.suis*. Известно, что рядом отечественных исследователей предпринимались попытки конструирования и испытания на северных оленях гомологичных убитых и ослабленных живых вакцин, изготовленных из «олених» культур бруцелл [1, 2]. Однако эти исследования не выходили за рамки производственных опытов, и поэтому ни один вакцинный препарат не был предложен для широкого практического применения. Попытки же изготовления вакцин из культур *B.suis* в целях применения на северных оленях никем не предпринимались, несмотря на свою обоснованность и перспективность. В связи с этим всестороннее изучение свойств вакцинного штамма *B.suis* 61 на лабораторных животных, мелком рогатом скоте и северных оленях имеет большой научный и практический интерес [3, 4, 5, 6].

Цель и методика исследований. Целью исследований является изучение реактогенных, антигенных и иммуногенных свойств культуры из штамма *B.suis* 61 в опытах на морских свинках. Работа была выполнена в период 1994 по 2013 гг. в лаборатории по эпизоотологии, диагностики и профилактики бруцеллеза ВИЭВ и в лаборатории инфекционных и инвазионных болезней оленей Якутского НИИ сельского хозяйства (в отделе серологии Якутской республиканской ветеринарно-испытательной лаборатории, а также в оленеводческих хозяйствах Якутии). Для всестороннего изучения и изготовления опытной серии вакцины из коллекции музея лаборатории эпизоотологии, диагностики и профилактики бруцеллёза ВИЭВ была отобрана лиофилизированная в ампулах под вакуумом культура вакцинного штамма *B.suis* 61 (сушка 04.06.86). Культурально-

морфологические свойства указанного штамма изучали по методикам, рекомендованным Комитетом экспертов по бруцеллёзу FAO/ВОЗ (6 доклад, 1986).

В первом опыте для изучения сроков расселяемости и приживаемости культуры штамма *B.suis* 61 морских свинок в количестве 20 голов разбили на 4 группы и иммунизировали подкожным и пероральным методами введения одномолиардной взвеси из указанного штамма. Убой морских свинок и бактериологическое исследование лимфатических узлов и органов (по 9 объектов от каждого животного) проводили через 30 и 60 дней после введения культур. Во втором опыте на 70-ти морских свинках, наряду с изучением антигенных свойств, определяли иммуногенность вакцины из штамма *B.suis* 61 в сравнении с вакциной из штамма *B.melitensis* REV-1. Через 60 дней после иммунизации животных опытных и контрольной (невакцинированной) групп с целью проверки состояния иммунитета заразили культурой из вирулентного штамма *B.melitensis* 102 Н в дозе 500 живых клеток (100 минимальных инфицирующих доз, вызывающих заражение всех интактных животных – ИД 100).

Результаты исследований. Результаты бактериологического исследования показали, что культура бруцелл вакцинного штамма *B.suis* 61 задерживается только в лимфатических узлах морских свинок. При этом более широко и на более продолжительное время она персистирует у животных, привитых подкожным методом (через 30 дней она выделена от всех животных при ИИ = 65,7 %, а через 60 дней от 40 % животных при ИИ = 6,8 %). При пероральном методе введения было получено через 30 дней только 6 культур вакцинного штамма *B.suis* 61 из лимфатических узлов 75 % животных (ИИ = 16,6 %), а через 60 дней – из 5 животных, только от одной морской свинки (20 %) была выделена одна культура из подчелюстного лимфатического узла (ИИ = 2,2 %) (табл. 1).

Таблица 1
Результаты опыта по изучению сроков расселяемости и приживаемости культуры шт. *B.suis* 61 в организме морских свинок

№ п/п	Метод введения	Количество живот- ных		Проверено вы- сегов		Количество мор- ских свинок, от которых выделена культура		Выделено куль- тур		Индекс ин- фицирован- ности
		при- виты	исследовано бактериол.	всего	в том чис- ле учтено	гол.	в %	всего	из органов	
убой через 30 дней										
1	подкожно	5	4	36	35	4	100	23	0	65,7
2	подкожно	5	4	36	35	3	75	6	0	16,6
убой через 60 дней										
3	перорально	5	5	45	44	2	40	3	0	6,8
4	перорально	5	5	45	44	1	20	1	0	2,2



При повторении аналогичного опыта на 10-ти морских свинках, убитых и исследованных через 70 дней после введения культуры вакцинного штамма, получены такие же результаты. По результатам проведенных исследований можно отметить, что расселяемость и сроки приживаемости при разных методах введения культуры вакцинного штамма 61 неодинаковы. Если при подкожном методе она расселяется довольно широко, то при пероральном главным образом поражаются только лимфатические узлы головы и у большинства животных культура задерживается на непродолжительное время. Во втором опыте по изучению иммуногенных свойств вакцинного штамма B.suis 61 было использовано 70 морских свинок, которых распределили на 7 групп по 10 животных в каждой. Схема иммунизации представлена в табл. 2.

Через 45 дней после заражения всех животных опытных и контрольной групп убили и исследовали бактериологическим методом высева патологического материала (по 10 объектов от каждого животного) на МППГБ (по 1 пробирке их объекта) и МППГА (по 2 пробирки). Первый просмотр посевов на наличие роста микроорганизмов проводили через 5 дней, одновременно увлажняя посевным

материалом поверхность агара в пробирках, в которых рост отсутствовал, а в последующем через каждые 5 суток в течение 30 дней. Выделенные культуры микроорганизмов подвергали идентификации путём постановки пластинчатой реакции агглютинации на стекле с S-, R-противобруцеллезными сыворотками и негативной сывороткой крови морской свинки, а также микроскопии мазков, окрашенных по Граму и Козловскому.

Привитые культурой вакцинного шт. B.suis 61 независимо от метода иммунизации противостояли экспериментальному заражению вирулентной культурой бруцелл. В группах морских свинок, привитых вакциной из шт. B.melitensis REV-1, количество иммунных также было высоким, однако преимущество следует отдать конъюнктивальному методу, при котором все противостояли заражению (табл. 3).

Таким образом, несмотря на длительное хранение культуры из штамма B.suis 61 (в течение более 40 лет) в лабораторных условиях (ВИЭВ) в лиофилизированном в ампулах под вакуумом виде с периодической пересушкой, результаты проведенного нами изучения фенотипических, антигенных, вирулентных и иммуногенных (на морских свинках) свойств показали, что она оставалась стабильной и по всем

Таблица 2

Схема опыта по сравнительному изучению иммуногенных свойств культуры шт. B.suis 61 и вакцины из штамма B.melitensis REV-1

№ групп	Вакцинный штамм	Доза млрд м. к	Метод введения вакцины	Срок проверки иммунитета после прививки (мес.)	Срок убоя животных после заражения, (дни)	Количество животных в группе
1	B.suis 61	1x10 ⁹	подкожно	3	45	10
2	B.suis 61	1x10 ⁹	конъюнктно	3	45	10
3	B.suis 61	1x10 ⁹	перорально	3	45	10
4	B.melitensis REV-1	1x10 ⁹	подкожно	3	45	10
5	B.melitensis REV-1	1x10 ⁹	конъюнктно	3	45	10
6	B.melitensis REV-1	1x10 ⁹	перорально	3	45	10
7	Непривиты		контроль	3	45	45

Таблица 3

Сравнительные данные об иммуногенности культуры из шт. B.suis 61 и вакцины из шт. B.melitensis REV-1 в опыте на морских свинках

Штамм	Методы введения	Кол-во исследуемых	Из них				Выделено культур			Индекс инфицированности, %
			иммунных		заразилось		Все-го	в т. ч. из		
			гол	%	гол	%		лимф. узлов	органов	
61	подкожно	8	8	100	0	0,0	—	—	-	0,0
61	конъюнкно	8	8	100	0	0,0	—	—	-	0,0
61	перорально	2	2	100	0	0,0	—	—	-	0,0
REV-1	подкожно	4	3	75,0	1	25,0	7	6	1	19,4
REV-1	конъюнкно	7	7	100	0	0,0	—	—	-	0,0
REV-1	перорально	6	4	66,7	2	33,7	8	6	2	14,9
—	контроль	9	0	0,0	9	100	33	21	12	41,8



показателям соответствовала требованиям, предъявляемым к вакцинным штаммам бруцелл.

Выводы. Рекомендации. Положительные результаты изучения основных свойств культуры вакцинного штамма B.suis 61 в лабораторных опытах

на морских свинках послужили основанием для изготовления опытной серии сухой вакцины из этого штамма и изучения её реактогенных, антигенных и иммуногенных свойств в опытах на овцах и северных оленях.

Литература

1. Решетников А. Д., Винокуров Н. В., Лайшев К. А., Барашкова А. И. Оленеводство Якутии: проблемы, пути решения (на примере Анабарского района) // Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. 2014. № 35. С. 101–103.
2. Слепцов Е. С. Совершенствование методов иммунизации животных против бруцеллёза вакцинами из штаммов B.abortus 19, 104 М, 82 и B.suis 61: автореф. дисс... д-ра вет. наук 16.00.03. Санкт-Петербург, 1999. 50 с.
3. Слепцов Е. С., Винокуров Н. В., Евграфов Г. Г. Свойства вакцины из штаммов B.abortus 82 и B.abortus 75/79-AB в организме северных оленей // Достижение науки и техники АПК. 2013. № 4. С. 72–73.
4. Слепцов Е. С., Винокуров Н. В., Федоров В. И., Евграфов Г. Г. Иммунологическая реактивность организма северных оленей при повторной реиммунизации вакцинами из штаммов B.abortus 82 и B.abortus 75/79-AB // Аграрный вестник Урала. 2011. № 4 (83). С. 27.
5. Слепцов Е. С., Искандаров М. И., Винокуров Н. В., Евграфов Г. Г., Евграфова А. В. Результаты бактериологических исследований оленьих культур из штаммов B.suis 45 и B.suis 245 в организме морских свинок : мат. Межд. науч.-практ. конф. «Инновационные разработки молодых ученых – развитию агропромышленного комплекса». Ставрополь, 2013. С. 256.
6. Слепцов Е. С., Винокуров Н. В., Устинцева Ю. Ю., Малышева И. А., Захарова О. И. Иммуногенность вакцин из штаммов B.abortus 19 и 82, B.suis 61 для северных оленей при различных методах введения // Аграрный вестник Урала. 2011. № 4 (83). С. 21–22.

References

1. Reshetnikov A. D., Vinokurov N. V., Laishev K. A., Barashkova A. I. Reindeer of Yakutia: problems and solutions (on example of the Anabar District) // News of St. Petersburg State Agrarian University. 2014. № 35. P. 101–103.
2. Sleptsov E. S. Improved methods of immunization of animals against brucellosis vaccine strain B.abortus 19, M 104, 82 and 61 B.suis: Author. diss candidate. veterinary sciences 16.00.03. St. Petersburg, 1999. 50 p.
3. Sleptsov E. S., Vinokurov N. V., Evgrafov G. G. Properties of the vaccine from strains B.abortus 82 and B.abortus 75/79-AB in reindeer organism // Achievement of science and technology AIC. 2013. №4. P. 72–73.
4. Sleptsov E. S., Vinokurov N. V., Fedorov V. I., Evgrafov G. G. Immunological reactivity of reindeer organism after reimmunization by vaccines from strains B.abortus 82 and B.abortus 75/79-AB // Agrarian bulletin of the Urals. 2011. № 4 (83). P. 27.
5. Sleptsov E. S., Iskandarov M. I., Vinokurov N. V., Evgrafov G. G., Evgrafova A. V. The results of bacteriological studies of deer crop strains B.suis 45 and B.suis 245 in the body of guinea pigs : mat. mezhdunarod. nauch.-practical conference «Innovative development of young scientists - development of agro-industrial complex.» Stavropol, 2013. P. 256.
6. Sleptsov E. S., Vinokurov N. V., Ustinceva Y. Y., Malysheva I. A., Zakharova O. I. Immunogenicity of the vaccine from strains B.abortus 19 and 82, B.suis 61 for reindeer in different methods of administration // Agrarian bulletin of the Urals. 2014. № 8 (126). P. 21–22.