

ИЗУЧЕНИЕ АНТИГЕННЫХ, ВИРУЛЕНТНЫХ И ИММУНОГЕННЫХ СВОЙСТВ «ОЛЕНЬИХ» КУЛЬТУР В ОРГАНИЗМЕ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

О. И. ЗАХАРОВА, соискатель,
Е. С. СЛЕПЦОВ, доктор ветеринарных наук, профессор,
Н. В. ВИНОКУРОВ, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник,
Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства
(677001, г. Якутск, ул. Б-Марлинского, д. 23/1)

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

В статье представлены материалы изучения антигенных, вирулентных и иммуногенных свойств «оленьих» культур в организме лабораторных животных. На плотные питательные среды после расплодки лиофилизированных культур бруцелл, сделаны пересевы из штаммов *B. suis* 61, *B. suis* 245, *B. suis* (олений), *B. abortus* 19 и *B. abortus* 54. Наиболее бурный рост отмечали у бруцелл из штаммов *B. abortus* 54 и *B. abortus* 19, затем по снижению: *B. suis* 61, *B. suis* 245, *B. suis* (олений). На питательных средах наиболее интенсивный рост наблюдался в пробирках с культурами бруцелл *B. abortus* 19, *B. abortus* 54, и *B. suis* 61. На плотные питательные среды через 3-е суток бруцеллы росли в виде мелких (1–2 мм в диаметре), выпуклых, круглых, правильно конструированных колоний. В проходящем свете они просвечивались, имели гладкую влажную или маслянистую поверхность, иногда с нежной зернистостью. В отраженном свете колонии имели зеленовато-голубой оттенок. При посеве «штрихом» на поверхность скошенного агара молодая культура бруцелл росла по следу бактериологической петли в виде нежного, прозрачного, блестящего, маслянистого налета с голубоватым оттенком, особенно хорошо видимым при отраженном свете. По характеру роста можно предположить что, культуры из «оленьего» штамма по изучаемым свойствам менее выражены по сравнению с другими культурами.

THE STUDY OF ANTIGENIC, VIRULENT AND IMMUNOGENIC PROPERTIES OF “DEER” CULTURES IN THE BODY OF LABORATORY ANIMALS

О. И. ZAKHAROVA, competitor,
Е. С. SLEPTSOV, doctor of veterinary sciences, professor,
N. V. VINOKUROV, candidate of veterinary sciences, senior researcher,
Yakut scientific research institute of agriculture named after M. G. Safronov
(23/1 B-Marlinskogo Str., 677001, Yakutsk)

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

The article presents materials on the study of antigenic, virulent and immunogenic properties of “deer” cultures in the body of laboratory animals. On dense nutrient media after brooding of lyophilized *Brucella* cultures, resections were made from strains *B. suis* 61, *B. suis* 245, *B. suis* (deer), *B. abortus* 19 and *B. abortus* 54. The most rapid growth was noted in *Brucella* from strains *B. abortus* 54 and *B. abortus* 19, then reduced: *B. suis* 61, *B. suis* 245, *B. suis* (deer). On nutrient media, the most intensive growth was observed in test tubes with *Brucella* cultures *B. abortus* 19, *B. abortus* 54, and *B. suis* 61. On dense nutrient media after 3 days, brucella grew in the form of small (1–2 mm in diameter), convex, round, correctly designed colonies. In transmitted light, they were translucent, had a smooth moist or oily surface, sometimes with a delicate graininess. In reflected light, the colonies had a greenish-blue hue. The young *Brucella* culture grew on the trail of a bacteriological loop in the form of a gentle, transparent, glossy, oily plaque with a bluish tinge, especially visible in reflected light when sowing on the surface of mown agar. By the nature of growth, it can be assumed that the cultures from the “deer” strain are less pronounced in comparison with other cultures.

Положительная рецензия представлена И. И. Бочкаревым, доктором биологических наук, профессором, заведующим кафедрой паразитологии и эпизоотологии животных Якутской государственной сельскохозяйственной академии.

Общеизвестно, что основу борьбы с бруцеллезом животных составляет система организационно-хозяйственных и ветеринарно-санитарных мероприятий. Наряду с общими профилактическими мероприятиями в комплексе мер существенное значение в предупреждении и ликвидации бруцеллеза отводится специфической профилактике. Система противобруцеллезных мероприятий требует постоянного совершенствования в целях повышения ее эффективности и надежности. При этом приоритетным направлением остается создание у животных высокой специфической защиты к бруцеллезу [1–15].

Цель и методика исследований. Изучить антигенные, вирулентные и иммуногенные свойства «оленьих» культур в организме лабораторных животных. Работа выполнялась в 2015 году в лаборатории инфекционных и инвазионных болезней оленей Якутский НИИ сельского хозяйства, в секторе хронических инфекций ВИЭВ им. Я. Р. Коваленко (Москва) с опытной базой о. Лисий (Тверская область), в РВИЛ Нижнеколымского улуса, в оленеводческих стадах ПК КРО «Турваургин» и КРО МНС (Ч) «Тэвр» Нижнеколымского района.

Опыт по изучению антигенных свойств, а также приживаемости и расселения бруцелл разных видов в органах и лимфатических узлах морских свинок. Для этой цели приобрели 50 морских свинок, из которых по принципу аналогов сформировали 5 групп по 10 голов в каждой.

На плотные питательные среды (МППГГА), после расплодки лиофилизированных культур бруцелл, сделали пересевы из штаммов *B. suis* 61, *B. suis* 245, *B. suis* (олений), *B. abortus* 19 и *B. abortus* 54. Посевы инкубировали в термостате при температуре 37 °С в течение 2 суток.

Результаты исследований. На плотные питательные среды (МППГГА), после расплодки лиофилизированных культур бруцелл из штаммов *B. suis* 61, *B. suis* 245, *B. suis* (олений), *B. abortus* 19 и *B. abortus* 54.

Наиболее бурный рост отмечали у бруцелл из штаммов *B. abortus* 54 и *B. abortus* 19, затем по снижению: *B. suis* 61, *B. suis* 245, *B. suis* (олений).

По прошествии 2-х суток, с момента посева, стерильным физиологическим раствором сделали смывы бакмассы бруцелл с агаровых культур. Затем, по отраслевому стандарту мутности по ГОСТ методом серийных разведений, приготовили суспензии бруцелл на физиологическом растворе с концентрацией 100 млн. м. к./мл. Приготовленные суспензии бруцелл вводили морским свинкам подкожно, в область внутренней поверхности бедра в дозе 1 мл. Схема опыта представлена в таблице 1.

Через 7, 15, 30 и 60 дней от всех животных были взяты пробы крови для исследования динамики титров антител. Через 15 и 30 дней, по 3 морские свинки из каждой группы, а на 60 сутки, оставшиеся животные, были по всем правилам общества защиты животных подвергнуты эвтаназии для патологоанатомического вскрытия и бактериологического исследования. При патологоанатомическом исследовании внимание обращено на гипертрофические и гиперпластические изменения паренхиматозных органов и лимфатических узлов, наличие очагов геморрагии, дистрофии, местной реакции на введение антигена и другие явления, отличные от физиологической нормы. Бактериологические посева на плотные и жидкие питательные среды были произведены из селезенки, печени, костного мозга, сердца, почек, паховых, шейных, подчелюстных, парааортальных лимфатических узлов, всего 14 объектов.

Опыт по расплодке лиофильно высушенных культур бруцелл хранящихся в музее Вышневолоцкого филиала ВИЭВ с опытной базой. Первые генерации из лиофилизированных культур получали путем разведения их стерильным физиологическим раствором и посевом на поверхность скошенного мясопептонного печеночного глюкозо-глицеринового агара (МППГГА) в пробирках. В мясопептонном печеноч-

Таблица 1

Схема опыта по испытанию антигенных свойств, а также расселения и приживаемости бруцелл разных видов в органах и лимфатических узлах морских свинок

Table 1

Scheme of experience in testing antigenic properties, as well as the settling and survival of brucella of various species in organs and lymph nodes of guinea pigs

№ групп № group	Кол-во Quantity	Вид бруцелл Brucella view	Доза (млн.м.к.) Dose (mln.m.c)	Исследовано голов через: Animals studied after:			
				7 дней 7 days	15 дней 15 days	30 дней 30 days	60 дней 60 days
				Серологически Serological	Серологически/бактериологически Serological/bacteriological		
1	10	<i>B. suis</i> 61,	100	10	10/3	7/3	4/4
2	10	<i>B. suis</i> 245	100	10	10/3	7/3	4/4
3	10	<i>B. suis</i>	100	10	10/3	7/3	4/4
4	10	<i>B. abortus</i> 19	100	10	10/3	7/3	4/4
5	10	<i>B. abortus</i> 54	100	10	10/3	7/3	4/4

ном бульоне (МППБ) бруцеллы вначале вызывали равномерное помутнение среды, в дальнейшем на дне пробирки появлялся небольшой осадок, а на поверхности бульона – кольцевидный рост, несколько приподнимающийся над уровнем жидкости. В отраженном свете кольцо имело голубоватый оттенок. При длительном выращивании культур бруцелл на бульоне, на дне пробирки образовывалось большое количество осадка и мощное поверхностное кольцо. На поверхности скошенного агара культура росла в виде сплошного налета на границе с жидкостью. Реже рост наблюдали в виде отдельных колоний. Наиболее интенсивный рост наблюдался в пробирках с культурами бруцелл *V. abortus* 19, *V. abortus* 54, и *V. suis* 61.

При посеве на плотные питательные среды в чашках Петри, через 3-е суток инкубации в термостате при температуре 37 °С на поверхности агара бруцеллы росли в виде мелких (1–2 мм в диаметре), выпуклых, круглых, правильно конструированных колоний. В проходящем свете они просвечивались, имели гладкую влажную или маслянистую поверхность, иногда с нежной зернистостью. В отраженном свете колонии имели зеленовато-голубой оттенок.

При посеве «штрихом» на поверхность скошенного агара молодая культура бруцелл росла по следу бактериологической петли в виде нежного, прозрачного, блестящего, маслянистого налета с голубоватым оттенком, особенно хорошо видимым при отраженном свете. Со временем налет постепенно мутнел и принимал желтоватый оттенок. При этом нами не отмечено каких-либо различий в характере роста у разных культур бруцелл, за исключением скорости роста, о чем указано выше.

При микроскопировании мазков, окрашенных по методу Козловского или Шуляка-Шин, бруцеллы были в виде мелких, полиморфных палочек красного цвета, грамтрицательные.

Таким образом, в результате наших исследований установлено что, наиболее интенсивный рост наблюдается в пробирках с культурами бруцелл *V. abortus* 19, *V. abortus* 54, и *V. suis* 61 по сравнению с *V. suis* 245 и *V. suis* (олений). По характеру роста можно предположить что, культуры из «оленьего» штамма по изучаемым свойствам менее выражены по сравнению с другими культурами.

Литература

1. Винокуров Н. В., Слепцов Е. С. Изучение диагностической эффективности РНГА при бруцеллезе северных оленей // Ветеринария и кормление. 2007. № 6. С. 35.
2. Винокуров Н. В., Слепцов Е. С. Изучение диагностической эффективности реакции непрямой гемагглютинации при бруцеллезе // Якутский медицинский журнал. 2008. № 4. С. 72–73.
3. Винокуров Н. В., Евграфов Г. Г., Слепцов Е. С. Эпизоотология бруцеллеза северных оленей в различных зонах Республики Саха (Якутия) // Инновационные разработки молодых ученых – развитию АПК : мат. III Междунар. науч.-практ. конф. Ставрополь, 2014. Т. 2. № 7. С. 352–355.
4. Винокуров Н. В., Лайшев К. А., Слепцов Е. С., Евграфов Г. Г. Реактогенные свойства и иммунологическая реактивность слабоагглютиногенных вакцин из штаммов *V. abortus* 75/79-AB и 82 для северных оленей // Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. 2014. № 36. С. 79–81.
5. Винокуров Н. В., Лайшев К. А., Решетников А. Д., Слепцов Е. С., Макарова Л. И. Современное состояние по бруцеллезу северных оленей в Республике Саха (Якутия) // Ветеринарный врач. 2014. № 4. С. 18–22.
6. Винокуров Н. В., Лайшев К. А., Слепцов Е. С., Евграфов Г. Г. К вопросу о бруцеллезе северных оленей в Республике Саха (Якутия) // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2016. № 1. С. 54–58.
7. Слепцов Е. С., Винокуров Н. В., Искандаров М. И., Федоров В. И., Замьянов И. Д. Иммунопрофилактика бруцеллеза северных оленей с использованием противобруцеллезных вакцин в условиях Республики Саха (Якутия) : монография. Новосибирск, 2016. 108 с.
8. Слепцов Е. С., Винокуров Н. В., Евграфов Г. Г. Свойства вакцины из штаммов *V. abortus* 82 и *V. abortus* 75/79-AB в организме северных оленей // Достижение науки и техники АПК. 2013. № 4. С. 72–73.
9. Слепцов Е. С., Винокуров Н. В., Федоров В. И., Евграфов Г. Г. Иммунологическая реактивность организма северных оленей при повторной реиммунизации вакцинами из штаммов *V. abortus* 82 и *V. abortus* 75/79-AB // Аграрный вестник Урала. 2011. № 4. С. 27.
10. Слепцов Е. С., Искандаров М. И., Винокуров Н. В., Евграфов Г. Г., Евграфова А. В. Результаты бактериологических исследований оленьих культур из штаммов *V. suis* 45 и *V. suis* 245 в организме морских свинок // Инновационные разработки молодых ученых – развитию агропромышленного комплекса : мат. между. науч.-практ. конф. Ставрополь, 2013. С. 256.
11. Слепцов Е. С., Винокуров Н. В., Устинцева Ю. Ю., Малышева И. А., Захарова О. И. Иммуногенность вакцин из штаммов *V. abortus* 19 и 82, *V. suis* 61 для северных оленей при различных методах введения // Аграрный вестник Урала. 2011. № 4. С. 21–22.
12. Слепцов Е. С., Искандаров М. И., Винокуров Н. В., Евграфов Г. Г., Евграфова А. В. Предварительные результаты изучения свойств культур из штаммов *V. suis* 45 и *V. suis* 245 на лабораторных животных // Вестник Бурятской ГСХА им. В. Р. Филиппова. 2014. № 3. С. 28–31.

13. Слепцов Е. С., Искандаров М. И., Винокуров Н. В., Евграфов Г. Г., Евграфова А. А. Результаты бактериологических исследований «коленных культур» из штаммов B.suis 45 и B.suis 245 в организме морских свинок // Инновационные разработки молодых ученых – развитию АПК : мат. II Междунар. науч.-практ. конф. Ставрополь, 2013. Т. 3. № 6. С. 256–258.

14. Слепцов Е. С., Винокуров Н. В., Евграфов Г. Г. Реактогенные, антигенные и иммуногенные свойства культуры из шт. B.suis 61 в опытах на морских свинках // Аграрный вестник Урала. 2015. № 7. С. 32–35.

15. Слепцов Е. С., Альбертян М. П., Винокуров Н. В., Замьянов И. Д., Хоч А. А. Экспериментальный бруцеллез крупного рогатого скота в Республике Саха (Якутия) : монография. Новосибирск, 2016. 72 с.

References

1. Vinokurov N. V., Sleptsov E. S. A study of the diagnostic efficacy of IHGR in brucellosis of reindeer // Veterinary Medicine and Feeding. 2007. № 6. P. 35.

2. Vinokurov N. V., Sleptsov E. S. A study of the diagnostic efficiency of the indirect hemagglutination reaction in case of brucellosis // Yakutsk Medical Journal. 2008. № 4. P. 72–73.

3. Vinokurov N. V., Evgrafov G. G., Sleptsov E. S. Epizootology of brucellosis of reindeer in various zones of the Republic of Sakha (Yakutia) // Innovative developments of young scientists to the development of agro-industrial complex : proc. of the iii intern. scient. and pract. conf. Stavropol, 2014. Vol. 2. № 7. P. 352–355.

4. Vinokurov N. V., Laishev K. A., Sleptsov E. S., Evgrafov G. G. Reactogenic properties and immunological reactivity of weakly-agglutinogenic vaccines from strains B.abortus 75/79-AB and 82 for reindeer // Izvestiya of St. Petersburg State Agrarian University. 2014. № 36. P. 79–81.

5. Vinokurov N. V., Laishev K. A., Reshetnikov A. D., Sleptsov E. S., Makarova L. I. The current state of brucellosis of reindeer in the Republic of Sakha (Yakutia) // Veterinary doctor. 2014. № 4. P. 18–22.

6. Vinokurov N. V., Laishev K. A., Sleptsov E. S., Evgrafov G. G. On the Brucellosis of Reindeer in the Republic of Sakha (Yakutia) // Issues of Regulatory and Legal Regulation in Veterinary Medicine. 2016. № 1. P. 54–58.

7. Sleptsov E. S., Vinokurov N. V., Iskandarov M. I., Fedorov V. I., Zamyaynov I. D. Immunoprophylaxis of brucellosis of reindeers using anti-brucellosis vaccines in the Republic of Sakha (Yakutia) : monograph. Novosibirsk, 2016. 108 p.

8. 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.

9. 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. P. 27.

10. 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 // Innovative development of young scientists – development of agro-industrial complex : proc. of scient. and intern. conf. Stavropol, 2013. P. 256.

11. 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. P. 21–22.

12. Sleptsov E. S., Iskandarov M. I., Vinokurov N. V., Evgrafov G. G., Evgrafova A. V. Preliminary results of studying the properties of cultures from strains B.suis 45 and B.suis 245 on laboratory animals // Bulletin of Buryat State Agricultural Academy named after V. R. Filippov. 2014. № 3. P. 28–31.

13. Sleptsov E. S., Iskandarov M. I., Vinokurov N. V., Evgrafov G. G., Evgrafova A. A. The results of bacteriological studies of "reindeer cultures" from strains B.suis 45 and B.suis 245 in Organism of guinea pigs // Innovative developments of young scientists to the development of agro-industrial complex : proc. of the II intern. scient. and pract. conf. Stavropol, 2013. Vol. 3. № 6. P. 256–258.

14. Sleptsov E. S., Vinokurov N. V., Evgrafov G. G. Reactogenic, antigenic and immunogenic properties of the culture from pcs. B.suis 61 in experiments on guinea pigs // Agricultural Bulletin of the Urals. 2015. № 7. P. 32–35.

15. Sleptsov E. S., Albertyan M. P., Vinokurov N. V., Zamyaynov I. D., Khoch A. A. Experimental brucellosis of cattle in the Republic of Sakha (Yakutia) : monograph. Novosibirsk, 2016. 72 p.