

**ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭМУЛЬГИРУЮЩИХ АДЪЮВАНТОВ ПРИ ПРИГОТОВЛЕНИИ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ БОРДЕТЕЛЛЕЗА И ПАСТЕРЕЛЛЕЗА СВИНЕЙ**

Вербицкий А.А., Гвоздев С.Н.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», Республика Беларусь

*Статья включает экспериментальные данные о стерильности, безвредности, иммуногенности и реактогенности опытных серий инактивированных эмульсионных вакцин против бордетеллеза и пастереллеза свиней с различными адъювантами.*

*The article contains research data on sterility, safety, immunogenicity and reactivity of the test batch of inactivated emulsine vaccines with different adjuvants against porcine bordetellosis and pasteurellosis.*

Введение. Одним из условий успешного развития свиноводства является сохранность животных. Свообразные условия содержания, кормления и интенсивного использования свиней на промышленных комплексах отрицательно сказываются на физиологическом состоянии и естественной резистентности организма, что, в конечном итоге, способствует возникновению болезней, а также накладывает определенные отпечатки на их проявление, профилактику и борьбу с ними [1, 2, 12].

Если несколько лет назад первостепенное место в патологии свиней занимали остро протекающие болезни, то в настоящее время одной из трудно разрешимых проблем товарных хозяйств и комплексов являются заболевания органов дыхания. Инфекционные респираторные болезни свиней широко распространены практически во всех странах мира с развитым свиноводством и причиняют большой экономический ущерб. Частота и тяжесть респираторных заболеваний зависит от численности свиней в хозяйстве, их иммунного статуса и технологии производства [1, 3, 6].

По своей этиологии респираторные болезни весьма разнообразны. В большинстве случаев их возникновение обусловлено воздействием комплекса причин, главная из которых – инфекционные агенты: бактерии, вирусы и их ассоциации. К таким агентам относятся *Bordetella bronchiseptica* и *Pasteurella multocida* [2, 5, 6].

*Bordetella bronchiseptica* широко циркулирует в свиноводческих хозяйствах. Ее часто обнаруживают в носовой полости здоровых поросят и других млекопитающих, включая собак и кошек. Размножаясь в носовой полости, бордетелла выделяет цитотоксин, который вызывает атрофию носовых раковин и создает условия для размножения *P. multocida*. *B. bronchiseptica* является первичным легочным патогеном для поросят до 4-х недельного возраста и второстепенным патогеном для поросят в период дорацивания и откорма. Она повышает чувствительность поросят к другим респираторным патогенам [6].

Различают пять капсульных серотипов *P. multocida* (A, B, D, E, F). Из пораженных легких наиболее часто выделяют серотип A и несколько реже серотип D. Здоровые свиньи часто являются носителями пастерелл, которых как правило, обнаруживают в носовой полости и миндалинах [6].

Для профилактики бордетеллеза вакцины у нас в республике не производятся. Против пастереллеза имеется ряд биопрепаратов, но и при их использовании не всегда достигается желаемый эффект. Учитывая, что бордетеллез и пастереллез в большинстве случаев протекает в ассоциации, то необходимо разработка вакцин против указанных заболеваний.

В мировой практике применяют как живые, так и инактивированные вакцины [8, 11]. Живые вакцины часто обладают остаточной вирулентностью и реактогенностью, инактивированные свободны от этих недостатков, однако имеют более низкую иммуногенность за счет действия инактиванта, повреждающего антигенные структуры клеток микроорганизмов. Для повышения иммуногенности инактивированных вакцин применяют масляные адъюванты [4, 7, 9, 10, 13].

Эмульсин-вакцины создают длительный иммунитет, продолжительность которого зависит от масляного адъюванта, препятствующего быстрому всасыванию вакцины и таким образом создающего депо специфического антигена в организме на месте введения. Использование сильно реактогенного масла приводит к нежелательному эффекту - на месте введения образуются медленно заживающие раны [14].

Таким образом, целью нашей работы на данном этапе является подбор масляного адъюванта для приготовления вакцины против бордетеллеза и пастереллеза свиней.

Материалы и методы. Материалы – штаммы *B. bronchiseptica*, *P. multocida* серотипов A и D в качестве антигена; эмульсин-вакцина; адъюванты ISA 70, ISA 206, продукт 139; 160 белых мышей; сывороточный агар.

Все исследования были подразделены на несколько этапов. На первом этапе были приготовлены опытные образцы 3-х эмульсин-вакцин, в состав которых вошли штаммы *B. bronchiseptica*, *P. multocida* серотипов A и D. Антигены смешивались в равной пропорции 1:1:1. В качестве масляной основы были использованы три разных адъюванта. Для приготовления первой вакцины в качестве масляной фракции использовали французский адъювант ISA 70. Для второй использовали ISA 206. Для 3-й экспериментальной вакцины использовали – продукт 139. Эмульсию готовили из расчета 30% антигена и 70% масляного адъюванта.

Полученные экспериментальные образцы вакцин проверяли на стерильность, определяли безвредность, реактогенность и иммуногенность

Стерильность полученных препаратов проверяли путем посева на МПА, МПБ, среду Сабуро и Кит-Тароцци. Безвредность опытных образцов определяли на белых мышках путем подкожного введения им вак-



цин в дозе 0,5 мл на животное.

Реактогенность проверили гравиметрическим методом. Для этого было сформировано 6 групп животных (по 5 мышей в каждой) – по 2 группы на каждую вакцину. По 2 группы животных формировали с той целью, что реактогенность биопрепаратов проверяли через 24 часа после введения вакцины, а также на 10 сутки с момента введения препарата.

Животным каждой группы вводили в пяточную поверхность задней лапки вакцину в дозе 0,05 мл. Задняя лапка, в которую вакцину не вводили, служила контролем.

Мышей первых трех групп через 24 часа после введения вакцин усыпили хлороформом, после чего отрезали на уровне скакательного сустава лапки. Затем собрали общие пробы – пять опытных и пять контрольных лапок – и взвесили. Реактогенность считали по разнице в весе лапок. Точно такие же манипуляции провели с мышами остальных трех групп через 10 дней после введения вакцин.

Иммунную активность опытных вакцин проверили на лабораторных животных. Для этого было сформировано 13 групп мышей по 10 животных в каждой. Для проверки иммуногенности для каждой вакцины использовались по 4 группы животных (всего 12 групп). 13-я группа служила контролем. Животных первой группы иммунизировали подкожно в дозе 0,025 мл вакцины на животное. Мышей второй группы иммунизировали в дозе 0,05 мл на животное. Животным 3-й и 4-й групп вакцину вводили соответственно в дозах 0,1 и 0,2 мл подкожно. В таких же дозах были иммунизированы животные оставшихся групп вакциной с другими адъювантами. Животным контрольной группы вводили изотонический раствор натрия хлорида. Затем за мышами велось наблюдение. На 21-й день после вакцинации животных всех групп подвергли экспериментальному заражению.

Для заражения использовали тест культуры бордетелл и пастерелл. Мышам вводили смывы суточных культур *B. bronchiseptica* и *P. multocida* подкожно по 200 млн. микробных клеток. В течение 2-ух недель вели наблюдение за животными. Павших животных подвергали вскрытию. Из внутренних органов делали посева и мазки отпечатки.

Результаты. За период наблюдения в посевах из вакцин рост отсутствовал. При определении безвредности все подопытные животные оставались живыми на протяжении всего опыта. Видимых местных изменений в зоне инъекции препарата не установлено.

Результаты определения реактогенности отражены в таблице 1.

Таблица 1. Показатели реактогенности эмульсин-вакцин в сочетании с различными адъювантами.

| Адъювант    | Через 24 часа (г) |       |                | На 10 сутки (г) |       |                |
|-------------|-------------------|-------|----------------|-----------------|-------|----------------|
|             | О.л               | З.л   | Разница в весе | О.л             | З.л   | Разница в весе |
| ISA 70      | 1,245             | 0,661 | 0,584          | 1,032           | 0,584 | 0,448          |
| ISA 206     | 1,367             | 0,684 | 0,683          | 1,046           | 0,612 | 0,434          |
| Продукт 139 | 1,570             | 0,658 | 0,912          | 2,023           | 0,631 | 1,392          |

Где О.л. – опытные лапки, З.л. – здоровые лапки (вес лапок определяли с помощью аналитических весов).

Как видно из таблицы, если разница в весах лапок при первом исследовании (через 24 часа с момента введения вакцины) в группах была незначительной и лежала в пределах от 0,584 (ISA 70) до 0,912 (продукт 139), то при втором исследовании (на 10 сутки после введения вакцины) разница уже колебалась от 0,448 (ISA 70) до 1,392 (продукт 139). Вес опытных лапок (вакцина с адъювантом продукт 139) превышал вес контрольных лапок в 3,1 раза, тогда как при использовании других адъювантов разница в весе опытных и контрольных лапок, что через 24 часа, что на 10-ые сутки не превышала более чем в 1,5 раза.

Из проведенного опыта следует, что наибольшей реактогенностью обладает вакцина на основе продукта 139 и она гораздо выше на 10-й день после введения вакцины, в то время как наименьшей реактогенностью через 24 часа и на 10 сутки после введения обладает вакцина с адъювантом ISA 70 ( $P > 0,05$ ).

Результаты изучения иммуногенной активности приведены в таблице 2.

Как видно из указанной таблицы, наилучшие показатели сохранности мышей наблюдаются в тех группах, где вакцина применялась в дозе 0,1 – 0,2 мл на животное. Так, в группе, для вакцинации которой применяли эмульсин-вакцину в сочетании с ISA 70 сохранность мышей повышалась пропорционально дозе введения вакцины и составила 60% (0,025мл) и 100% (0,2 мл). При вакцинации мышей с адъювантом ISA 206 в дозах 0,025 мл и 0,05 мл выжило 60% мышей, а при дозах 0,1 и 0,2 мл по 100%.

Если аналогично сравнивать и продукт 139, то сохранность животных составила соответственно – 70, 80, 90 и 100% в зависимости от дозы применения эмульсин-вакцины.

Животные контрольной группы пали все.

Полученные результаты свидетельствуют, что все опытные вакцины (адъюванты ISA 70, ISA 206, продукт 139) обеспечивают максимальную защиту при применении их в дозе 0,2 мл на животное. Использование вакцин в дозе 0,025 мл на животное – сохранность мышей в группах варьирует от 60% (ISA 70, ISA 206) до 70% при вакцинации с продуктом 139. Применение вакцины в дозе 0,05 мл на животное увеличивает количество выживших мышей при использовании продукта 139 до 80%.

При использовании дозы 0,1 мл на животное обеспечило полное отсутствие падежа только в группе, вакцинированной с адъювантом ISA 206. В тоже время, другие вакцины использованные в опыте обеспечили защиту на 90% (9 из 10 животных выжили).



Таблица 2. Иммуногенность эмульсин-вакцин.

| Адьювант    | Доза (мл) | Животных в группе | Выжило | Пало | % выживаемости |
|-------------|-----------|-------------------|--------|------|----------------|
| ISA 70      | 0,025     | 10                | 6      | 4    | 60             |
|             | 0,05      | 10                | 7      | 3    | 70             |
|             | 0,1       | 10                | 9      | 1    | 90             |
|             | 0,2       | 10                | 10     | 0    | 100            |
| ISA 206     | 0,025     | 10                | 6      | 4    | 60             |
|             | 0,05      | 10                | 6      | 4    | 60             |
|             | 0,1       | 10                | 10     | 0    | 100            |
|             | 0,2       | 10                | 10     | 0    | 100            |
| Продукт 139 | 0,025     | 10                | 7      | 3    | 70             |
|             | 0,05      | 10                | 8      | 2    | 80             |
|             | 0,1       | 10                | 9      | 1    | 90             |
|             | 0,2       | 10                | 10     | 0    | 100            |
| Контроль    | -         | 10                | 0      | 10   | 0              |

Заключение. Приготовленные нами опытные образцы вакцин с различными адьювантами (ISA 70, ISA 206, продукт 139) оказались стерильными и безвредными.

При определении реактогенности выяснилось, что наименьшей реактогенностью обладает вакцина с адьювантом ISA 70. Наименее приемлемым вариантом в этом отношении оказалась вакцина на основе продукта 139. Изучение иммуногенной активности приготовленных вакцин показало, что максимальную защиту животных в минимальной дозе обеспечивает препарат с адьювантом ISA 206.

Вывод: адьюванты ISA 70 и ISA 206 являются приемлемыми для приготовления вакцины против бордетеллеза и пастереллеза свиней. Препараты на их основе обладают слабой реактогенностью и достаточной высокой иммуногенностью.

*Литература.* 1. Андросик, Н.Н. Этиологическая структура пневмоний свиней на комплексах Белоруссии / Н.Н. Андросик // "Проблемы диагностики, терапии и профилактики незаразных болезней животных в промышленных комплексах". - Воронеж, 1986. - С.18 - 20. 2. Вербицкий А.А. Роль бордетелл в респираторной патологии свиней / А.А. Вербицкий // Исследования молодых ученых в решении проблем животноводства: Материалы международной научно-практич. конф. молодых ученых и преподавателей сельскохозяйственных учебных заведений и научно-иссл. учреждений, 22-23 мая Витебск. - Витебск, 2001. - С.21-22. 3. Иммуногенность вакцин против пастереллеза свиней / Р.В. Душук [и др.] // Ветеринария. - 1997. - №10. - С. 18 - 20. 4. Иммуногенные свойства штаммов *Pasteurella multocida* / В.В. Каширин // Ветеринария. -1995. - №10. - С. 25 - 29. 5. Инактивация пастерелл и сальмонелл при изготовлении биопрепаратов / Н.Б. Бушурева, М.Я. Ярцев // Ветеринария. - 1997. - №11. - С. 23 - 25. 6. Инфекционные респираторные болезни свиней / Б.Г. Орлянкин [и др.] // Ветеринария №11, 2005- с.14-17. 7. Лабораторные испытания инактивированной эмульгированной вакцины против пастереллеза птиц / Б.Я. Бирман, Р.П. Лизун // Птицеводство Беларуси. - 2002. - №3. - С. 18 - 20. 8. Получение аттенуированного штамма *P. multocida* / А.В. Леонов, В.В. Гусев // Ветеринария. - 2004. - №10. - С. 23 - 26. 9. Профилактика пастереллеза сельскохозяйственных животных на современном этапе / Н.Н. Андросик, Ю.Г. Лях // Весці акадэміі аграрных навук Рэспублікі Беларусь. - 2000. - №4. - С. 62 - 64. 10. Совершенствование специфической профилактики пастереллеза / В.Е. Заерко [и др.] // Ветеринария. - 2000. - №6. - С. 20 - 22. 11. Сравнительное изучение эффективности противопастереллезной вакцины для свиней / Х.В. Саркисян [и др.] // Ветеринарная патология. - 2003. - №1. - С. 135 - 138. 12. Эпизоотическая ситуация и прогноз по пастереллезу свиней в Республике Беларусь / Ю.Г. Лях // Ветеринарная патология. - 2003. - №1. - С. 137 - 139. 13. Immunological action of the dermonecrotic toxins of *Bordetella bronchiseptica* and *Pasteurella multocida* on SPF piglets / Elias B. [et al] // Monatshefte fur Veterinarmedizin. - 1993. - Vol. 48. - № 7. - P. 349-354. 14. Kruger M. Specific stimulation of the respiratory tract of piglets by *Bordetella bronchiseptica* live vaccines, a review / M. Kruger, F. Horsch // Monatshefte fur Veterinarmedizin. - 1992. - Vol. 47. - № 2. - P. 75-78.

УДК 619:616.98:578.834.11:615.37:636.5

#### ВЛИЯНИЕ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ ИНФЕКЦИОННОГО БРОНХИТА НА МОРФОЛОГИЮ ПЕЧЕНИ И АКТИВНОСТЬ ИНДИКАТОРНЫХ ФЕРМЕНТОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПТИЦ

\*Громов И.Н., \*\*Орлова О.В.

\*УО "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины",  
\*\*ГУ "БелНИИ травматологии и ортопедии НАН Беларуси", г. Минск, Республика Беларусь

Изучено влияние парентеральной иммунизации против инфекционного бронхита на морфологию печени и биохимические показатели плазмы крови молодняка кур. Показано, что иммуноморфологические реакции в печени вакцинированных птиц проявляются макрофагальной и лимфоидной инфильтрацией, а также формированием гранулем. Под влиянием компонентов вакцины в гепатоцитах развивается зернистая и жировая дистрофия, а в плазме крови - снижается активность ЛДГ, АлТ, АсТ, ГГТ и ЩФ.

The influence of parenteral immunization against infectious bronchitis on morphology of a liver and biochemical indexes of a blood plasma of hen youngsters is studied investigated. It is shown, that immunomorphological reactions in a liver вакцинированных auks are developed macrophagal and lymphoid infiltration, and also formation