

8. Индрисов Г. З. «Ветеринария», 1972, № 2.
9. Карандашов Н. Г. Уч. зап. Казанского гос. вет. ин-та им. Н. Э. Баумана. Казань, 1972, т. 112.
10. Лебедев К. А. «Архив патологии», 1965, № 2.
11. Фонталин Л. Н. Иммунологическая реактивность лимфоидных органов и клеток. М., «Медицина», 1967.
12. Фриденштейн А. Я., Чертков И. Л. Клеточные основы иммунитета. М., «Медицина», 1969.

УДК 615.377:616.988:636.7

Д. Д. БУТЬЯНОВ, В. А. КИРПИЧЕНОК
Витебский ордена «Знак Почета» ветеринарный институт
им. Октябрьской революции

Н. А. КОВАЛЕВ
Белорусский научно-исследовательский институт
экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышеселеского

ИСПЫТАНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЭМБРИОНАЛЬНОЙ АССОЦИИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ БЕШЕНСТВА И ЧУМЫ СОБАК

Основным методом профилактики чумы собак и бешенства является вакцинация. В связи с тем что проводится она отдельно, требуются большие затраты труда и времени ветеринарных специалистов, к тому же сроки прививок растягиваются до четырех-пяти недель. Поэтому сокращение сроков прививок и уменьшение затрат на них является актуальной задачей ветеринарной науки и практики. Снизить эти два показателя можно, применяя одновременное введение нескольких моновакцин, либо вводя ассоциированные вакцины. Большинство ученых в нашей стране и за рубежом более перспективным считают метод приготовления ассоциированных вакцин.

При испытании нами метода ассоциированной иммунизации собак против бешенства и чумы с использованием производственных моновакцин (сухой антирабической фенол-вакцины и сухой вирусвакцины против чумы плотоядных из штамма 668/КФ) получены положительные результаты. Напряженный иммунитет против обеих инфекций после ассоциированной вакцинации сохранялся более 10 месяцев (срок наблюдения).

Нами была поставлена цель приготовить и испытать эмбриональную ассоциированную вакцину против бешенства и чумы собак.

В литературе мы нашли лишь единичные сообщения о попытках приготовить ассоциированную вакцину против бешенства и чумы плотоядных [1].

Для конструирования эмбриональной ассоциированной вакцины против бешенства и чумы собак был использован аттенуированный вирус бешенства штамм RB, полученный в БелНИИЭВ, и вакцинный вирус чумы плотоядных штамм 668/КФ.

Расплодку вирусов проводили на 7-дневных куриных эмбрионах, которые получали с Минской птицефабрики, благополучной по сальмонеллезу и другим остроинфекционным заболеваниям птиц. Оба вируса вводили одновременно в один и тот же эмбрион. Вирус бешенства из штамма RB инокулировали в желточный мешок, вирус чумы плотоядных — на хориоаллантоисную оболочку в дозе по 0,25 мл. Одновременно ставили два контроля: одну часть куриных эмбрионов заражали только аттенуированным вирусом бешенства, другую — только вакцинным вирусом чумы плотоядных в таких же дозах.

Зараженные куриные эмбрионы помещали в термостат при температуре 37° и влажности 60%. Ежедневно проводили овоскопию. На 7-й

день инкубации их вскрывали, извлекали тело эмбриона и хориоаллантоисную оболочку.

Вирус бешенства хорошо размножался в теле эмбриона и вызывал массовые кровоизлияния. Вирус чумы плотоядных размножался на хориоаллантоисной оболочке, что проявлялось в образовании мелких белых наложений. Тело эмбриона и хориоаллантоисную оболочку помещали в стерильную посуду, взвешивали, гомогенизировали и разводили 0,5%-ным гидролизатом лактоальбумина в растворе Хенкса в соотношении 1 : 10, добавляли бензилпенициллин и стрептомицин (по 100 МЕ каждого на 1 мл суспензии). Таким же образом поступали и с контрольными эмбрионами.

В дальнейшем до лиофилизации в опытной ассоциированной вакцине определяли титр обоих вирусов. Титр вируса бешенства определяли на белых мышах. И в опытной, и в контрольной вакцине он был равен $10^{-5,5}$ LD_{50/0,30} мл. Титр вируса чумы в опытной вакцине и в контроле определяли титрацией в культуре ткани куриных фибробластов. В обоих случаях он был равен 10^{-4} ТЦД_{50/0,2} мл. Указанные результаты показывают, что накопление аттенуированных вирусов бешенства и чумы плотоядных при одновременной расплодке их в куриных эмбрионах происходит так же, как и при раздельном культивировании.

Полученную опытную ассоциированную вакцину расфасовывали во флаконы по 3 мл, добавляли стабилизирующую среду (обезжиренное молоко в соотношении 1 : 1) и подвергали лиофильной сушке. Флаконы проверяли на герметичность. В дальнейшем вакцину проверяли на растворимость физиологическим раствором 1 : 5. В течение 1—2 минут вакцина полностью растворялась. Видимых хлопьев и осадка не появлялось.

Вакцину проверяли на остаточную влажность, она равнялась 2—3%.

На стерильность вакцину проверяли путем посева из трех ампул каждой серии на МПБ, МПА, МППБ под вазелиновым маслом и среду Сабуро. Сухую вакцину предварительно разводили раствором Хенкса в соотношении 1 : 5. В каждую пробирку с питательной средой вносили 0,5 мл вакцины. Пробирки помещали в термостат при 37° и выдерживали 10 дней. Рост микрофлоры отсутствовал.

После лиофилизации в ассоциированной вакцине снова определяли титры вирусов на белых мышах и культуре ткани куриных фибробластов. Титр рабического вируса равнялся $10^{-4,5}$ LD_{50/0,03} мл, титр вируса чумы плотоядных — $10^{-3,5}$ ТЦД_{50/0,2} мл. Как видно, после лиофильной сушки титры обоих вирусов уменьшились незначительно.

На безвредность и остаточную вирулентность вакцину проверяли на белых мышах и собаках. Белым мышам ее вводили внутрибрюшинно в дозе 0,5 мл, собакам в возрасте 3—4 месяцев — 3 мл внутримышечно. За животными вели наблюдение в течение 41 дня. Белые мыши и собаки оставались здоровыми. Аппетит и общее состояние собак не изменялись.

Иммуногенность антирабического компонента опытной эмбриональной ассоциированной вакцины определяли по методу К. Habel (1975). Двадцати белым мышам вводили вакцину по 0,25 мл внутрибрюшинно в разведении 1 : 10 шестикратно с интервалом 1—2 дня. Пятнадцать мышшей служили контролем (невакцинированные).

Через 14 дней после вакцинации мышшей заражали интрацеребрально суспензией фиксированного вируса бешенства, содержащей 500 LD₅₀ в дозе 0,03 мл. Контрольным мышам вводили фиксированный вирус бешенства в разведении 10^{-5} , 10^{-6} и 10^{-7} (по 5 мышшей на каждое разведение). Наблюдали за животными 14 дней. Учитывали гибель мышшей с 5-го по 14-й день после заражения. Индекс иммуногенности вакцины, представляющий собой разницу между титром вируса в контрольной и иммунизированной группах, был равен 2239.

Для определения иммуногенности ассоциированной вакцины в отношении чумы опыт поставлен на 14 собаках 3—4-месячного возраста, которых разделили на 4 группы. Собакам I группы (4 головы) вводили ассоциированную вакцину в дозе 1 мл, II группы (4 головы) — в дозе 2 мл, III группы (4 головы) — в дозе 3 мл. Собаки IV группы (2 головы) служили контролем (не вакцинировались). Через 21 день подопытных и контрольных собак заразили вирулентным вирусом чумы плотоядных (штамм «Гауяский») в дозе 100 LD₅₀. Все собаки, иммунизированные вакциной в дозе 3 мл, и одна собака из II группы остались живыми, остальные пали с явными клиническими признаками чумы. Таким образом, опыт показал, что ассоциированная вакцина в дозе 3 мл вызывает напряженный иммунитет к чуме плотоядных.

Эффективность опытной эмбриональной ассоциированной вакцины проверяли в двух опытах. Первый опыт поставлен на 16 собаках 3—4 месяцев. Вакцину растворяли физиологическим раствором и вводили внутримышечно в дозе 3 мл в область внутренней поверхности бедра. Реактогенность ассоциированной вакцины была умеренной. Осложнений после вакцинации не наблюдалось.

На 21-й день после иммунизации пяти вакцинированным собакам и трем контрольным (невакцинированным) ввели подкожно до 100 LD₅₀ вирулентного вируса чумы плотоядных штамм «Гауяский». Пять вакцинированных и трех контрольных собак заразили интрацеребрально фиксированным вирусом бешенства штамм «Москва» (титр вируса 10⁻⁵ LD_{50/0,03} мл для белых мышей, доза — 0,5 мл в разведении 1 : 1500, или 150 летальных м. е.). В течение 45-дневного наблюдения все вакцинированные собаки были клинически здоровы. Собаки невакцинированные (контрольные), зараженные фиксированным вирусом бешенства, пали с характерными клиническими признаками паралитической формы бешенства на 8—9-й день. Контрольные собаки, зараженные вирусом чумы плотоядных, пали на 16—19-й день после заражения.

Во втором опыте иммунитет к бешенству и чуме после применения опытной ассоциированной вакцины определяли у 16 собак через 4 месяца. Все подопытные собаки (10 голов) после заражения вирусом бешенства и чумы остались живыми. Шесть контрольных собак (невакцинированных) пали.

Таким образом, наши исследования свидетельствуют о возможности приготовления эмбриональной ассоциированной вакцины против бешенства и чумы. После дальнейшего изучения, усовершенствования технологии изготовления, определения оптимальных доз и режимов лиофилизации эмбриональная ассоциированная вакцина из аттенуированного вируса бешенства штамм RB и вакцинного вируса чумы плотоядных штамм 668/КФ может быть рекомендована для испытания в производственных условиях.

В ы в о д ы

1. При одновременном культивировании на куриных эмбрионах аттенуированного вируса бешенства штамм RB и вакцинного вируса чумы плотоядных штамм 668/КФ происходит размножение и накопление обоих вирусов в таких же титрах, как и при отдельном их культивировании.

2. Лиофильная сушка эмбриональной ассоциированной вакцины против бешенства и чумы не вызывает значительного снижения титра вирусов.

3. Приготовленная нами эмбриональная ассоциированная вакцина против бешенства и чумы является безвредной и иммуногенной для собак.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Chamg C.* Canad. J. Comper. Med. a Veter. Sci., 1965, 29, 2.
2. *Habel K.* Методы лабораторных исследований по бешенству. ВОЗ, Женева, 1975.

УДК 619:614.9—0,84.47.634.4

Г. Е. ШПАК, В. А. КУЗНЕЦОВ

*Витебский ордена «Знак Почета» ветеринарный институт
им. Октябрьской революции*

ДИНАМИКА ЦИНКА И КАРБОАНГИДРАЗЫ В ОРГАНИЗМЕ СВИНЕЙ ПРИ КОМПЛЕКСНОЙ ИММУНИЗАЦИИ

В настоящее время все большее практическое применение находит комплексный метод иммунизации животных, позволяющий в короткий срок создать невосприимчивость организма к нескольким инфекционным заболеваниям. Это вызывает необходимость всестороннего изучения реакций организма на одновременно вводимые антигены.

О взаимоотношениях цинка с карбоангидразой в поствакцинальных реакциях организма при ряде инфекционных заболеваний мало известно. Установлено, что карбоангидраза катализирует реакции связывания для удаления ее углекислот из организма. Она необходима для образования соляной кислоты слизистой желудка и бикарбонатов поджелудочной железой, является участником системы поддержания кислотно-щелочного равновесия. Карбоангидраза содержит цинк, который стимулирует ферментативную активность. Являясь составной частью ферментов, гормонов и витаминов [6, 1, 2], цинк оказывает регулирующее влияние на обмен белков, углеводов и жиров.

Известно также, что цинк и карбоангидраза принимают участие в иммунных реакциях. Установлено, например, что добавление к рациону цинка усиливает специфическую реактивность организма [4]. Известно также благоприятное влияние препаратов цинка на повышение неспецифического иммунитета при дизентерии [5]. Исследования показали, что при одновременной иммунизации свиней против болезни Ауески и паратифа наряду с увеличением концентрации цинка и усилением активности карбоангидразы в крови увеличивается количество лейкоцитов и возрастает их фагоцитарная активность [8].

Многообразное влияние цинка на процессы в организме, его структурная и функциональная связь с карбоангидразой предполагают их участие в механизме иммунобиологических реакций. Нами были изучены распределение цинка и активность угольной ангидразы в организме свиней, комплексно иммунизированных против чумы, рожи, пастереллеза и болезни Ауески.

Опыт проведен на 12 клинически здоровых поросятах-отъемышах из хозяйств, благополучных по острым заразным заболеваниям. Животных разделили на две группы. Поросят одной группы привили комплексно против чумы, рожи, пастереллеза и болезни Ауески, вторая группа служила контролем. Для иммунизации применяли сухую авирулентную вирусвакцину АСВ из штамма К против чумы, депонированную вакцину против рожи, преципитированную формолвакцину против пастереллеза и сухую вирусвакцину ВГНКИ против болезни Ауески. Кратность прививок и дозировка соответствовали наставлениям по применению этих препаратов. Смесь живых вакцин против чумы, рожи и болезни Ауески вводили в одну точку тела одновременно, в другое место другим шприцем вводили формолвакцину против пастереллеза.

Время исследований разделили на два периода: первый (период активного формирования иммунитета) — 14 дней, второй (период стаби-