

*Аманова Ж.Т., Таранов Д.С., Жугунисов К.Д., Ершебулов З.Д.,
Саметова Ж.Ж., Баракбаев К.Б., Абдураимов Е.О.*

**МАЙДА КЕПШӨӨЧҮ ЖАНЫБАРЛАРДЫН КАРА ТУМООСУ
ЖАНА КОЙЛОРДУН ЧЕЧЕК ООРУСУНА КАРШЫ АССОЦИАЦИЯЛАНГАН
ВАКЦИНАСЫНЫН ИММУНОГЕНДУҮЛҮГҮ**

*Аманова Ж.Т., Таранов Д.С., Жугунисов К.Д., Ершебулов З.Д.,
Саметова Ж.Ж., Баракбаев К.Б., Абдураимов Е.О.*

**ИММУНОГЕННОСТЬ АССОЦИИРОВАННОЙ
ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ЧУМЫ МЕЛКИХ ЖВАЧНЫХ
ЖИВОТНЫХ И ОСПЫ ОВЕЦ**

*Zh.T. Amanova, D.S. Taranov, K.D. Zhugunisov, Z.D. Ershebulov,
Zh.Zh. Sametova, K.B. Barakbayev, E.O. Abduraimov*

**IMMUNOGENICITY OF ASSOCIATED VACCINE AGAINST PESTE
DES PETITS RUMINANTS AND SHEEP POX**

УДК: 619:578.831.21:578.821.21

Макалада майда кепшөөчү жаныбарлардын кара тумоосу (МКЖКТ) жана койлордун чечек оорусуна (КЧО) каршы ассоциацияланган вакцинасынын иммуногендүүлүгүн табигый сезгич жаныбарларда аныктоо боюнча изилдөөлөрдүн натыйжалары берилген. 6-7 айлык койлордо жүргүзүлгөн изилдөөлөрдүн натыйжасында, МКЖКТ жана КЧО каршы ассоциацияланган вакцина жогорку деңгээлдүү иммуногендүүлүк касиетти көрсөттү. Вакцинацияланган койлордун канында көрсөтүлгөн ар бир илдетке каршы жогорку деңгээлдүү вирус нейтралдаштыруучу антиденелердин пайда болушу жана интенсивдүү иммунитеттин түзүлүшү, койлорду кой чечегинин патогендүү вирусунун «А» штамыменен контролдук жугузуудун натыйжасында коштолду. МКЖКТ жана КЧО каршы ассоциацияланган вакцина иммуногендүүлүгүн аныктоо боюнча изилдөөлөрдүн натыйжаларын талдоо негизинде иштелип чыккан ассоциацияланган вакцина койлор үчүн жогорку иммуногендүү деп белгиленди.

Негизги сөздөр: ассоциацияланган вакцина, иммуногендүүлүк, майда кепшөөчү жаныбарлар, кара тумоо, койлордун чечек оорусу, антиген, антидене.

В статье представлены результаты исследований по определению иммуногенности ассоциированной вакцины против чумы мелких жвачных животных (ЧМЖЖ) и оспы овец (ОО) на естественно восприимчивых животных. В опытах, проведенных на овцах 6-7 мес. возраста установили, что ассоциированная вакцина против ЧМЖЖ и ОО обладает высокой иммуногенной активностью. Иммунизация вызывала образование в крови овец вируснейтрализующих антител в высоких титрах против каждой из вышеуказанных болезней и обеспечивала формирование напряженного иммунитета, что подтверждено результатами контрольного заражения овец вирулентным вирусом ОО, штамм «А». На основании анализа полученных результа-

тов по определению иммуногенности ассоциированной вакцины против ЧМЖЖ и ОО было установлено, что разработанная ассоциированная вакцина обладает высокой иммуногенностью для овец.

Ключевые слова: ассоциированная вакцина, иммуногенность, оспа овец, чума, мелкие жвачные животные, антиген, антитело.

The article presents the results of studies to determine the immunogenicity of the associated vaccine against peste des petits ruminants (PPR) and sheep pox (SP) on naturally susceptible animals. In experiments on sheep's aged 6-7 months, were found that the vaccine against PPR and SP possesses high immunogenic activity. Immunization caused the formation in blood of sheep high level of neutralizing antibodies against each of the listed infections and ensures the formation of intense immunity, which is confirmed by the results of the control infection sheep with virulent sheep pox virus, strain "A". Based on the analysis of the obtained results for the determination of the immunogenicity of the associated vaccine against PPR and SP, it has been established that the developed associated vaccine has a high immunogenicity for sheep. Based on the analysis of the obtained results on determination of the immunogenicity of the associated vaccine against PPR and SP, it has been established that the developed associated vaccine has a high immunogenicity for sheep.

Key words: associated vaccine, immunogenicity, sheep pox, peste des petits ruminants, antigen, antibody.

Введение. Географическое распространение чумы мелких жвачных животных (ЧМЖЖ) и оспы овец (ОО) в последние годы вызывают серьезную озабоченность, так как, несмотря на полувековую историю открытия их возбудителей, а также разработку и совершенствование профилактических средств и методов борьбы, эти болезни все еще остаются одним из

главных проблем ветеринарии. Настоящие высококонтагиозные болезни мелких жвачных животных, при вспышке наносят существенные экономические убытки сельскому хозяйству, слагающиеся с массовой гибелью естественновосприимчивых животных.

Согласно информации Международного Эпидемиологического Бюро (МЭБ) за 2018-2019 гг. неблагоприятная ситуация по ЧМЖЖ складывается в таких странах как Бурунди, Израиль, Монголия, Кения, Китай, Коморские острова, Мальдивские острова, Сьерра-Леоне, Тунис, Уганда, в эти же год в Греции, Израиле и России зарегистрирована ОО [1]. Существует высокая вероятность заноса этих болезней и в Республику Казахстан. При этом наиболее тревожная ситуация по риску заноса ЧМЖЖ и ОО складывается в северных и северо-западных регионах, а также в юго-восточной части Казахстана, где имеется сухопутная граница с Россией и Китаем.

Самой надежной защитой от вирусов ЧМЖЖ и ОО является специфическая профилактика [2]. На сегодняшний день во многих странах в качестве профилактики от указанных болезней используют живые моновакцины. Изготовление многих из них основано главным образом на использовании аттенуированных штаммов, обладающих высокой иммуногенностью и не требующих больших затрат на производство биопрепаратов [3]. Тем не менее, единовременная или последовательная угроза возникновения ЧМЖЖ и ОО, как в Израиле, требует профилактические мероприятия против обоих вирусов, что могло бы найти свое решение при использовании ассоциированной вакцины. Преимущество ассоциированной вакцины заключается в создании иммунитета сразу к двум болезням одновременно при экономии времени и трудовых затрат [4].

Ранее сообщалось, что разработанные в других странах ассоциированные вакцины против ЧМЖЖ и ОО обладали высокой иммуногенностью и безопасностью для мелких жвачных животных [5-10].

В разработке ассоциированных вакцин особое значение имеет иммунологическая эффективность, так как только после получения результатов исследований по определению иммунологической (клинической) эффективности вакцины можно получить ответ на основные вопросы, интересующие многих ученых при разработке данного рода вакцин, является ли вакцина иммуногенной и защитит ли она вакцинированных животных от нескольких болезней одновременно?

С учетом литературных данных в Казахстане в лице НИИПББ, также как и в других странах была разработана ассоциированная вакцина для одновременной профилактики ЧМЖЖ и ОО. Для оценки эффективности разработанной вакцины требовалось

изучение ее иммуногенной активности и протективности, что и являлось целью настоящих исследований.

Материалы и методы исследований. *Приготовление вакцины.* На основе штамма «Nigeria-75/1» вируса ЧМЖЖ и штамма «НИСХИ» вируса ОО приготовлены лабораторные серии сухой культуральной ассоциированной вакцины. Для получения вирусной биомассы ЧМЖЖ и ОО, проводили раздельное культивирование вирусов с использованием культуры клеток Vero, выращенные в матрасах стационарным методом. Культуру клеток инфицировали данными штаммами в дозах 0,01 и 0,1 ТЦД₅₀/кл, соответственно и поместили в термостат при температуре 37 °С на 1 час, для контакта монослоя клеток с вирусом. По истечению контакта в матрасы с культурой клеток вносили поддерживающую среду ПСП, с содержанием 2% инактивированной сыворотки КРС и 1% глутамина в объеме 1/10 части матраса и культивировали в течение 6-9 сут. Ежедневно проводили визуальный контроль под световым микроскопом для обнаружения характерных деструктивных изменений в монослое клеток. По достижению цитопатического действия в монослое культуры клеток на 80-90 % матрасы замораживали при минус 20°С в течение 12-18 часов с последующим оттаиванием при комнатной температуре. Полученные суспензии вирусов ЧМЖЖ и ОО объединяли 1:1 и добавляли защитную среду, охлажденную до 4 ± 1 °С, в соотношении 1:1, с добавлением антибиотиков.

Содержимое сосуда тщательно перемешивали и разливали по 2,0 см³ в стерильные ампулы. Затем ампулы помещали в металлические кассеты и проводили лиофилизацию в сублимационной установке с последующим оттаиванием под вакуумом. До использования ампулы с вакциной хранили при минус 20°С.

Изучение иммуногенных свойств вакцины. Иммуногенную активность вакцины изучали на овцах 6-7 мес. возраста серонегативных к вирусам ЧМЖЖ и ОО. Из выбранного поголовья животных были сформированы 2 группы по 9 гол. в каждой. Первую группу животных подвергали вакцинации испытуемой вакциной; вторую оставляли в качестве контроля. Иммунизацию проводили подкожно по 1,0 см³ (1000 ТЦД₅₀) в область бесшерстного участка кожи (подмышечная область), обрабатывая место введения вакцины 70% спиртом. На 21, 60 и 90 сут после введения вакцины у животных отбирали пробы крови с последующим выделением из крови сыворотки для определения вируснейтрализующих антител (ВНА) к вирусу ЧМЖЖ и ОО.

Изучение протективных свойств вакцины. На 21, 60 и 90 сут после вакцинации животных вакцини-

рованных и контрольных групп инфицировали внутривенно в область подхвостовой складки вирулентным штаммом «А» вируса ОО, в дозе 500 – 1000 ИД₅₀. Ежедневно, в течение 14 сут измеряя температуру тела инфицированных овец, проводили клиническое наблюдение.

Определение иммуногенности вакцины. Иммуногенность разработанной ассоциированной вакцины определяли в реакции нейтрализации (РН) по наличию титра антител в сыворотке крови иммунизированных овец к вышеуказанным вирусам и результатом контрольного заражения вакцинированных животных вирулентным вирусом ОО.

Определение РН. РН проводили согласно методике указанной в литературе [6].

Статистическая обработка экспериментальных данных. Математическую достоверность результатов исследований устанавливали с использованием программы GraphPadPrism 6.0. Порогом статистической значимости считали $P < 0.05$.

Результаты исследований. У животных вакцинированных ассоциированной вакциной не выявляли клинические признаки указанных болезней в течение всего срока наблюдения. Также у животных не отмечались изменения температуры тела (рис. 1).

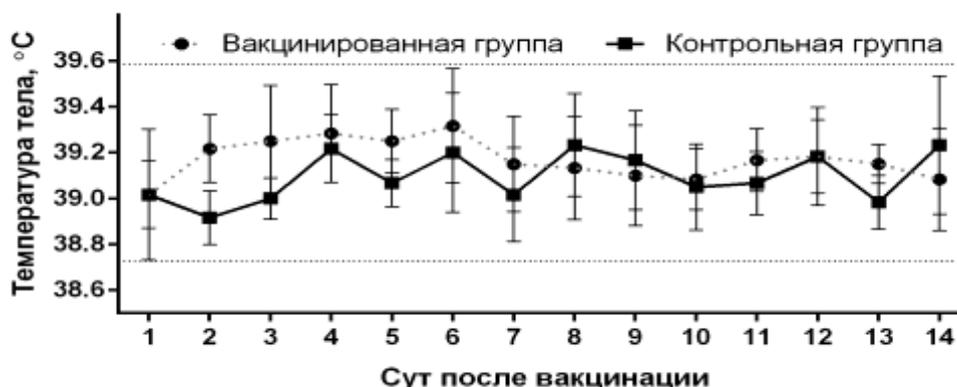


Рис. 1. Динамика изменений температуры тела вакцинированных и контрольных групп овец после вакцинации ассоциированной вакциной.

При оценке иммуногенности ассоциированной вакцины на овцах установлено, что у иммунизированных овец на 21 сут после вакцинации ассоциированной вакциной в сыворотках крови выявлялись ВНА в титрах к вирусу ОО до $3,67 \log_2$, к вирусу ЧМЖЖ $2,33 \log_2$. На 60 сут, уровень ВНА увеличились до $4,67 \log_2$ и $2,67 \log_2$, и указанный уровень антител на 90 сут достигли до $5,00 \log_2$ и $3,00 \log_2$ соответственно. У контрольных групп овец в сыворотках крови антитела к обоим вирусам отсутствовали (таблица 1).

Таблица

Выявления ВНА к вирусу ЧМЖЖ и ОО в сыворотках крови вакцинированных и контрольных овец

Группа	Кол-во овец гол.	Титр антител, \log_2					
		ЧМЖЖ			ОО		
		21 сут	60 сут	90 сут	21 сут	60 сут	90 сут
Первая	3	$2,33 \pm 0,33$	$2,50 \pm 0,50$	$2,92 \pm 0,23$	$3,67 \pm 0,33$	$4,33 \pm 0,33$	$4,92 \pm 0,23$
Контроль первой	3	0	0	0	0	0	0
Вторая	3	$2,33 \pm 0,33$	$2,67 \pm 0,33$	$3,00 \pm 0,00$	$3,62 \pm 0,12$	$4,67 \pm 0,33$	$5,00 \pm 0,00$
Контроль второй	3	0	0	0	0	0	0
Третья	3	$2,25 \pm 0,25$	$2,33 \pm 0,33$	$2,67 \pm 0,33$	$3,53 \pm 0,58$	$4,17 \pm 0,12$	$4,84 \pm 0,31$
Контроль третьей	3	0	0	0	0	0	0

Известно, что для надежной защиты мелких жвачных животных против чумы уровень ВНА в сыворотке крови животных должен быть не ниже 1:4 [7], что соответствует с данными полученными нами по титру ВНА.

Для определения наличия напряженного иммунитета обеих групп овец заразили вирулентным штаммом «А» вируса ОО в дозе 500-1000 ИД₅₀. В результате проведенных исследований, установлено,

что все овцы трех опытных групп проявляют устойчивость к вирусу ОО в течение 14 сут. При этом не наблюдались клинические симптомы оспенной или иной инфекции, температура тела овец была в рамках физиологической нормы (рис. 2), кроме припухлости у 3 овец в месте введения вирулентного вируса, размером 1,0x1,5 см, которое рассосалось на 3-5 сут после заражения.

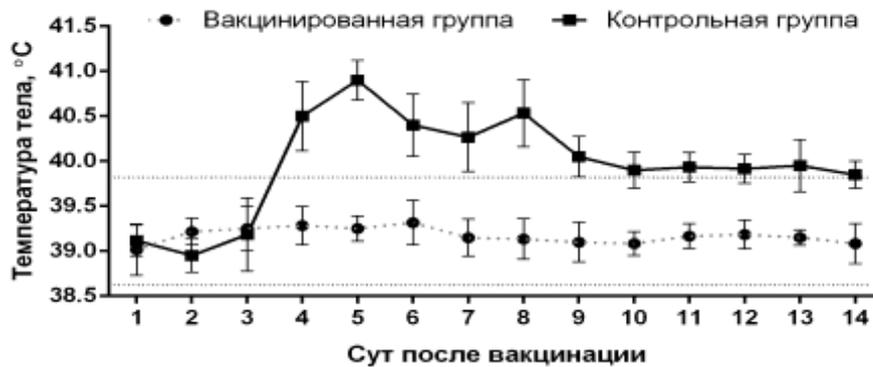


Рис. 2. Температура тела животных вакцинированной и контрольной групп после контрольного заражения вирулентным вирусом «А».

В свою очередь, контрольные (не вакцинированные) животные заболели с проявлением характерных для ОО клинических признаков. У них отмечали повышение температуры тела (от 40,5 до 41,0) °C на протяжении 3-4 сут, появление красных высыпаний в области паха и под лопатками, припухлости и узелки размером 3-5 см в диаметре в месте инъекций вирулентного вируса. На 10-11 сут. узелки увеличиваясь в размере превращались в везикулы.

На основе анализа полученных результатов по определению иммуногенности ассоциированной вакцины против ЧМЖЖ и ОО установлено, что разработанная вакцина обладает высокой иммуногенностью для овец.

Обсуждение. Основанием для создания ассоциированной вакцины против ЧМЖЖ и ОО послужили литературные источники, содержащие информацию о том, что данный вид вакцины по эффективности не уступает моновалентным вакцинам против указанных инфекций, при этом обеспечивает развитие длительной нечувствительности к вирусам даже после однократной иммунизации [5-10].

Уместно отметить, что в доступных литературных источниках представлены исследования ученых ряда зарубежных стран, связанные с разработкой аналогичных вакцин. В частности индийскими учеными представлены результаты оценки эффективности ассоциированной вакцины против ОО и ЧМЖЖ из штаммов RF и PPRV-Sungr/96, соответственно.

Указанная вакцина индуцировала образование в крови опытных овец высокий титр антител, определенные в РН и иммуноферментном анализе (ИФА) и предохраняла животных от инфицирования вирулентным вирусом ОО и ЧМЖЖ через 30 сут после иммунизации [8].

Также учеными Национального ветеринарного института (НВИ) Эфиопии была разработана комбинированная вакцина против ЧМЖЖ, ОО и оспы коз (ОК) из штаммов PPR75/1 (LK6 Vero74) и Kenyan sheep and goat pox (0180), соответственно. Эффективность и безопасность комбинированной вакцины оценивались в сравнении с моновалентными вакцинами против указанных болезней в лабораторных и полевых условиях. В результате авторами установлено, что разработанная комбинированная вакцина против ЧМЖЖ, ОО и ОК по иммуногенности и безопасности не уступает моновалентным вакцинам против указанных болезней [9].

Аналогичные достижения сообщаются в исследованиях ученых Fakri F, Ghzal F, Daouam S и др., из Марокко, где представлены результаты полевых испытаний ассоциированной вакцины против ЧМЖЖ, ОО и ОК из штаммов Nigeria 75 и Romania, соответственно. Авторами, отмечено, что ассоциированная вакцина против ЧМЖЖ, ОО и ОК индуцирует образование ВНА в крови вакцинированных животных на 14 сут после вакцинации, обеспечивая высокую защиту от вирусов ЧМЖЖ, ОО и ОК [10].

Очередную ассоциированную вакцину против ЧМЖЖ и ОО разработали и Российские ученые. Так, Балышев В.М. и др. [11] разработали ассоциированную вакцину из штаммов Б/5-96 вируса ОО и 45G37/35 вируса ЧМЖЖ. После вакцинации овец и коз разработанной вакциной на 21 сутки формируется иммунитет одновременно против ОО и ЧМЖЖ, аналогичный иммунитету образующиеся после применения моновакцин против этих болезней.

Полученные нами экспериментальные данные по оценке иммуногенности ассоциированной вакцины против ЧМЖЖ и ОО свидетельствуют о высокой степени защиты от указанных болезней, что согласуются с исследовательскими данными вышеприведенных авторов, чьи исследования связаны с разработкой ассоциированных вакцин против ЧМЖЖ и ОО.

Таим образом, установлено, что ассоциированная вакцина при однократном применении формирует у овец напряженный иммунитет, обеспечивающий надежную защиту против ЧМЖЖ и ОО.

Заключение. Анализ экспериментальных данных позволяет заключить, что ассоциированная вакцина против ЧМЖЖ и ОО обладает высокой иммуногенностью при однократной иммунизации естественно восприимчивых животных.

Литература:

1. Эпизоотическая ситуация в мире по данным МЭБ [Эл. ресурс].-2018. - URL: <http://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/self-declared-disease-status/> (дата обращения: 25.02.2019).
2. Zeidan S.M., Namaa A. Mohamed., Hanan M.S. EL Zawahry., Saad M.A.A., Olfat E. Nakhla., Afaf A. Abdelwahab., Abeer A. Tammam., El-Dakhly A.T. Preliminary study for preparation of combined attenuated vaccine against sheep pox and ppr viruses // International Journal of Advanced Research. - 2016. - Vol. 4. - P. 212-219.
3. Закутский Н.И., Балышев В.М., Книзе А.В., Гузалова А.Г., Юрков С.Г. Чума мелких жвачных животных (Современное состояние, эпизоотология, специфическая профилактика и меры борьбы) // Научный журнал Куб. ГАУ. - 2012. - № 83(09)
4. Фролов С.В. Разработка ассоциированной вакцины против инфекционного бронхита кур и ньюкаслской болезни: дис. ... канд. вет. наук: 16.00.03: защищена 04.04.2000: утв. 08.02.2000 / Фролов Сергей Владимирович. – Владимир, 2000. - 172 с. - Библиография: с. 8.
5. Изучение антигенных и иммуногенных свойств экспериментальной ассоциированной вакцины против оспы овец, оспы коз и чумы мелких жвачных / Н.В. Мороз, В.И. Диев, Е.В. Капускин, М.С. Кукушкина // Тр. Федерального центра охраны здоровья животных: материалы Междунар. конф., посвящ. 50-летию ФГБУ «ВНИИЗЖ». - Владимир, 2008. - Т. 6. - С. 266-272.
6. Аманова Ж.Т., Таранов Д.С., Ершебулов З.Д., Жугунисов К.Д., Баракбаев К.Б., Булатов Е.А., Хайруллин Б.М., Сансызбай А.Р. Оценка эффективности ассоциированной вакцины против чумы мелких жвачных животных и оспы овец // Ветеринария. - 2016. - №9. - С. 21-24.
7. Таранов Д.С., Аманова Ж.Т., Булатов Е.А., Баракбаев К.Б., Ибраимова Н.М., Абдрахманова Б.С. Определение минимальной полевой иммунизирующей дозы ассоциированной вакцины против чумы мелких жвачных животных и оспы овец // Известия вузов. - 2014. - №5. - С. 150-152.
8. S.S. Chaudhary., K.D. Pandey., R. P. Singh., [et al.] A Vero cell derived combined vaccine against sheep pox and peste des petits ruminants for sheep // Vaccine. - 2009. - Vol. 27. - P. 2548-2553.
9. G. Ayalet, N. Fasil, S. Jembere, G. Mekonen, T.S.H. Negusie, Study on immunogenicity of combined sheep and goat pox and peste des petits ruminants vaccines in small ruminants in Ethiopia, Afr. J. Microbiol. Res. 6 (44) (2012) 7212-7217.
10. F. Fakri., F. Ghzal., S. Daouam., A. Elarkam., L. Douieb., [et al.] Development and field application of a new combined vaccine against Peste des Petits Ruminants and Sheep Pox // Trials in Vaccinology. – 2015. – Vol. 4. - P. 33-37
11. Балышев В.М., Париров С.В., Калантаенко Ю.Ф., Горшкова Т.Ф., Жуков А.Н., Гарькин А.В., Анисимова Л.И. Разработка ассоциированной вакцины против оспы овец и чумы мелких жвачных животных // Ветеринария. - 2010. - №9. - С. 21-24.