

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF AGRICULTURAL SCIENCES

ISSN 2224-526X

Volume 2, Number 38 (2017), 14 – 17

K. Kamalov, K. Maikhin, Kh. Abeuov

Kazakh national agrarian university, Almaty, Kazakhstan

**THE STUDY OF IMMUNOGENIC EFFICIENCY
OF STRAINS "KAZNAU/16" AND "ARRIAH" VIRUS SHEEP POX**

Abstract. The article presents the results of the immunogenic efficiency conditionally designated strain KazNAU/16 virus sheep pox and strain "ARRIAH" the past 15-passages in transplantable cell culture (kidney sheep).

Keywords: pox of sheep, cultures of cages, adaptation, sensitiveness, titles of virus.

УДК 619:576.858.13:615.371:636.3

К. Камалов, К. Т. Майхин, Х. Б. Абеуов

Казахский национальный аграрный университет, Алматы, Казахстан

**ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОГЕННОСТИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ СЕРИЙ
ВАКЦИНЫ ИЗ ШТАММОВ «КазНАУ/16» И «ВНИИЗЖ»
ВИРУСА ОСПЫ ОВЕЦ**

Аннотация. Приведены результаты опытов по изучению иммуногенной эффективности экспериментальных серий вакцины из штаммов «КазНАУ/16» и «ВНИИЗЖ» вируса оспы овец.

Ключевые слова: оспа овец, иммуногенная активность, перевиваемые культуры клеток, вирусвакцина, культуральный препарат, биомасса и титр вируса.

Введение. Оспа овец – контагиозная вирусная болезнь, характеризующаяся интоксикацией организма, лихорадкой, папулезно-пустулезными поражениями кожи и слизистых оболочек. Она наносит овцеводству огромный экономический ущерб, слагающийся из гибели и вынужденного убоя больных животных, снижения продуктивности, затрат на проведение ветеринарно-санитарных и охранно-карантинных мероприятий [1, 2]. К оспе восприимчивы домашние козы, а также дикие животные – сайгаки и козероги, служащие источником инфекции и переносчиками возбудителя. Оспа овец внесена в список наиболее опасных (конвенционных) болезней сельскохозяйственных животных. Она широко распространена во многих странах Азии, Африки и Ближнего Востока [3, 4]. В Казахстане ее эпизодически регистрирует в южных приграничных регионах с Узбекистаном, Кыргызстаном и КНДР [5].

В нашей стране для профилактики оспы овец применяют вакцину, включающая вирусосодержащий материал из аттенуированного штамма *Variola ovina* (НИСХИ) N 77, репродуцированного в культуре клеток почки ягнят, в Российской Федерации вирусвакцина культуральная сухая против оспы овец из штамма ВНИИЗЖ [5, 6].

Недостатки вакцины из штамма НИСХИ состоят в трудностях, обусловленных получением сырья в виде почек ягнят можно получить только после окотной кампании, а из штамма ВНИИЗЖ – в перевернутой культуре клеток, выращенной стационарным способом в матрасах Тартаковского.

Технология приготовления вирусвакцин с использованием первичных культур клеток предусматривает необходимость содержания животных-доноров почек и тестикул согласно предусмот-

ренных требований. Это осложняет процесс получения вирусвакцины, увеличивает ее себестоимость из-за сезонности и окотной компании препятствует непрерывному круглогодичному производству. Кроме того, первичные культуры клеток могут быть часто контаминированы персистентными вирусными возбудителями [7-9].

Поэтому задачей исследований являлось изучение иммуногенной эффективности вируса оспы овец условно обозначенного штамма «КазНАУ/16» прошедшего 15-пассажей в перевиваемой культуре клеток ТТ (тестикул телят), а также штамм «ВНИИЗЖ» вируса оспы овец прошедший 15-пассажей в перевиваемой культуре клеток ПО (почки овца).

Материалы и методы исследований. Для изготовления лабораторных серий противооспенной вакцины, использовали условно обозначенный штамм «КазНАУ/16» вируса оспы овец адаптированный и прошедший 15-пассажей в перевиваемой культуре клеток ТТ с биологической активности $10^{6,00}$ ТЦД_{50/см³}, а также штамм «ВНИИЗЖ» вируса оспы овец прошедший 15-пассажей в перевиваемой культуре клеток ПО с биологической активности $10^{6,00}$ ТЦД_{50/см³}.

При изготовлении вакцинного препарата штаммы «КазНАУ/16» и «ВНИИЗЖ» вируса оспы овец репродуцировали в перевиваемой культуре клеток тестикул телят, выращенной в матрасах Тартаковского в среде Игла-МЕМ, содержащей 10% инактивированной сыворотки крови крупного рогатого скота. Для инфицирования использовали клетки с полным рыхловатым монослоем без каких-либо дегенеративных изменений, полученным в течение 24-48 ч культивирования после посева. Ростовую среду из матраса с культурой клеток сливали и в них вносили вирус, разведенный на поддерживающей среде (Игла-МЕМ с 3% сыворотки крови крупного рогатого скота) из расчета 0,1-0,3 ТЦД_{50/кл}. Инфицированную культуру клеток в матрасах культивировали при $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ в течение 120-168 ч. Смену поддерживающей среды проводили однократно после проявления ЦПД. В период максимального развития цитопатогенного действия вируса не менее 80% площади монослоя клеток, матрасы подвергали замораживанию при температуре минус 20-40 $^\circ\text{C}$ не менее 3 ч, затем размораживали при комнатной температуре. Содержимое аналогичных матрасов объединяли и полученную культуральную вирусную суспензию подвергали испытанию на стерильность и биологическую активность.

При отсутствии посторонних контаминантов микробиологического, микологического характера и наличии титра вируса в суспензии не ниже $10^{5,50}$ ТЦД_{50/см³} биомассу вируса стабилизируют защитной средой, содержащей 3% пептона, 3% сахарозы и 1% желатина, путем смешивания их в равных объемных пропорциях. Полученную жидкую массу разливали в ампулы в дозе по 1,0 см³ для дальнейшего сублимационного высушивания. Ампулы с высушенным препаратом закрывали на карусельно-коллекторном аппарате при остаточном давлении 25-30 Па. Полученный препарат представлял гомогенную массу желтовато-белого цвета без посторонней примеси.

Приготовленный таким образом сухой культуральный препарат использовали в качестве вакцины против оспы овец на иммунобиологические показатели.

Определение иммуногенности биопрепарата проводили на 2 невакцинированных овцах 1-1,5 годового возраста массой не менее 15-20 кг, на каждую экспериментальную серию вакцины из штаммов «КазНАУ/16» и «ВНИИЗЖ» вируса оспы овец. Проверляли иммуногенную активность 3-х серий вакцин, 10, 15 и 20 пассажного уровня на культуре клеток ПЭО вируса оспы овец. В качестве контроля использовали (6 гол) при 2-х неиммуногенных овец на каждую серию вакцин. Вакцину разводили стерильной дистиллированной водой до исходного объема, а затем из него готовили разведения таким образом, чтобы в 1 см³ содержалось вируса 1000 ТЦД_{50/см³}. Вакцину вводили животным однократно в дозе 1 см³ подкожно в область бесшерстного участка подмышечной области. Через 12 дней всех вакцинированных и контрольных животных заражали вирулентным вирусом оспы овец штамм VO-98/К при 500 ИД₅₀/0,5 см³ внутрикожно в область внутренней поверхности хвоста.

Результаты исследований и их обсуждение. У зараженных овец ежедневно измеряли температуру тела и проводили клинически осмотр в течение 12 суток. Результаты проведенных исследований представлены в таблице.

Иммунизированные экспериментальной серией вакцины из штаммов «КазНАУ/16» и «ВНИИЗЖ» овцы после контрольного заражения эпизоотическим вирусом оспы оставались клинически здоровыми, тогда как контрольные животные заболели с проявлением характерных

Определение иммуногенной эффективности вирусвакцины из штамма КазНИВИ-АК/14
и температура тела животных после введения эпизоотического штамма VO-98/К вирусу оспы овец

Номера и примета овец	Дни наблюдения												
	07.03. 2014	07.03. 2014	07.03. 2014	07.03. 2014	07.03. 2014	07.03. 2014	07.03. 2014	07.03. 2014	07.03. 2014	07.03. 2014	07.03. 2014	07.03. 2014	07.03. 2014
№ п/п Овцы	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
№1 вакцина, 07075 (15 пас на ТТ штт «КазНАУ/16»)	39,1	39,2	38,9	39,1	39,2	39,3	39,2	39,1	39,4	39,3	39,1	39,1	39,1
№2 вакцина, 03805 (15 пас на ТТ штт. «КазНАУ/16»)	38,9	39,1	39,0	39,2	39,1	39,2	38,9	38,9	39,2	39,0	39,3	38,9	39,0
№3 вакцина, 05737 (15 пас ПО штт. «ВНИИЗЖ»)	38,7	39,0	38,9	39,0	38,9	39,3	38,9	39,2	39,3	39,4	39,3	39,0	39,2
№4 вакцина, 00367 (15 пас на ПО штт. «ВНИИЗЖ»)	39,2	39,1	38,9	39,1	39,1	39,2	39,0	39,3	39,4	39,2	39,4	39,2	39,1
№5 вакцина, 06123 контроль штт. «КазНАУ/16»	38,7	38,8	39,0	40,2	40,5	40,8	40,8	41,0	41,2	41,8	42,0	41,9	41,5
№6 вакцина, 04632 контроль штт. «ВНИИЗЖ»	39,2	39,0	39,1	39,9	40,3	40,6	40,9	40,9	41,3	41,7	41,8	41,9	41,8

клинических симптомов (повышение температура тела до 41,5-41,9⁰С, появление папул, переходящих в везикулы в месте введения вирулентного вируса в диаметре 1,5-3см³. На 3-4 сутки у контрольных животных на месте введения эпизоотического вируса оспы овец появились покраснения, температура тела у контрольных животных достигала 40,0-41,9⁰С, а у иммунизированных овец температура тела оставались в пределах нормы. На 5-6 сутки у контрольных животных оспенные поражения появились на бесшерстных участках головы и внутренней поверхности ног, наблюдалось угнетенное состояние, аппетит был снижен.

При наблюдении в течение 12 суток у иммунизированных животных, отклонения от физиологической нормы не наблюдались, овцы контрольной группы заболели генерализованной формой оспы, (контрольных животных) после опыта убили и утилизировали путем кремации.

Заключение. Таким образом, результаты проведенных опытов показывают, что экспериментальные серии противооспенной вакцины из штаммов «КазНАУ/16» и «ВНИИЗЖ» вируса оспы овец обладают достаточной иммуногенностью.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Кадыров У.Г., Борисович Ю.Ф. Оспа животных. – М., 1981. – С. 57-71.
- [2] Стурин В.Н., Самуйленко А.Л., Соловьев Б.В., Фомина Н.В. Оспа овец // В кн.: В
- [3] Стурин В.Н., Белоусова Р.В. Фомина Н.В. Семейство вирусов оспы // В кн.: Ветеринарная вирусология. – М.: Агропромиздат, 1991. – С. 366-369.
- [4] Гриценко Н. XXXII сессия международной службы эпизоотии: О присоединении к международному эпизоотическому бюро некоторых болезней животных // Ветеринария. – 1965. – № 1. – С. 107-110.
- [5] Пионтовский В.И., Жакупбаев Н.Х., Мустафин М.К. и др. Особенности профилактики и мер борьбы с оспой овец // Материалы Международной научно-производственной конференции «Роль ветеринарной науки в развитии животноводства», посвященной 75-летию Казахского НИВИ. – Алматы, 2000. – С. 38-40.
- [6] Сейткасымов Б.К. Усовершенствование технологии изготовления и способ применения вирусвакцины против оспы овец из штамма НИСХИ // Дис. ... канд. вет. наук. – Гвардейский: НИСХИ, 1990. – 171 с.
- [7] Иванощенков В.Н., Кекух В.Г., Кореба О.А. Реактогенные и иммуногенные свойства вирусвакцины против оспы овец // Ветеринария. – 1990. – № 7. – С. 28-30.
- [8] Грещенко В.В. Влияние контаминации на некоторые свойства первично-трипсицинизированной культуре почки эмбриона свиньи // Бюл. Всесоюзного института эксперим. Ветеринарии. – 1979. – Вып. 37. – С. 66-69.
- [9] Подрезова Е.А. О спонтанной контаминации клеточных культур при вирусологических исследованиях // Сб. науч. работ СибНИВИ. – 1980. – Вып. 37. – С. 126-132.

REFERENCES

- [1] Kadirov U.G., Borisovich Y.F. Smallpox of the animals. M., 1981. P. 57-71.
- [2] Syrin V.N., Samuilenko A.L., Soloviyev B.V., Fomina N.V. Ovinia.
- [3] Syrin V.N., Belousova R.V., Fomina N.V. Family of the ovinia virus // Veterinary virusology. M., 1991. P. 366-369
- [4] Grichenyk N. International XXXII session on the epizooty department// About an overlay for international epizootic department the some animals disease // Veterinary. 1965. N 1. P. 107-110.
- [5] Piontovskiy V.I., Zhakunbayev N.H. and other. Specifics prevention and measure science-production conference // "The role of the veterinary science in livestock sector damage", consecration of the 75th-KazNIVI. Almaty, 2000. P. 38-40.
- [6] Seitkasymov B.K. "Development of the production technology and administration practice cowpox virus against of ovinia for stock NISHI: Dis. ... c.v.s. Household: NISHi, 1990. P. 171.
- [7] Ivanychenko V.N., Kekuh V.G., Koreba I.A., Reactogenity and immunity internals cowpox virus against ovinia disease // Veterinary. 1990. N 7. P. 28-30.
- [8] Grechenko V.V., Contamination action for some internals primary-tripsinity stable-culture on pig embryo nephros. Big All Union experimental institute // Veterinary. 1979. N 37. P. 66-69.
- [9] Podrezova Ye.A. About spontaneous cells stab-culture contamination at virologic research. Collection of science work SibNIVI. 1980. N 37. P. 126-132.

К. Камалов, Қ. Т. Майхин, Х. Б. Абеуов

Қазақ ұлттық аграрлық университеті, Алматы, Қазақстан

**ҚОЙ КҮЛІ ІНДЕТІНІҢ «КАЗНАУ/16» ЖӘНЕ «ВНИИЗЖ» ШТАМДАРЫНАН
ӘЗІРЛЕНГЕН ВАКЦИНАНЫҢ ТӘЖІРИБЕЛІК СЕРИЯЛАРЫНЫҢ
ИММУНОГЕНДІГІН ЗЕРТТЕУ**

Аннотация. Мақалада қой күлі індетінің «КазНАУ/16» және «ВНИИЗЖ» штамдарынан әзірленген вакцинаның тәжірибелік серияларының иммуногендігін зерттеу нәтижелері берілген.

Түйін сөздер: қой күлі, иммуногендік белсенділігі, дамылсыз өсетін жасуша өсіндері вирустік вакцина, жасуша өсіндісінде дайындалған препарат, биомасса және вирус титрі.