

ПОДБОР КОНСОРЦИУМА АНТИГЕНОВ *CHLAMYDIA PSITTACI* ДЛЯ КОНСТРУИРОВАНИЯ ВАКЦИНЫ ПОЛИВИДОВОЙ ПРОТИВ ХЛАМИДИОЗА ЖИВОТНЫХ

Евстифеев Виталий Валерьевич^{1,2}, orcid.org/0000-0001-9882-3475

Яковлев Сергей Игоревич¹, orcid.org/0000-0003-4944-6559

Хусаинов Фидайль Миннигалеевич¹, orcid.org/0000-0002-3101-7740

Иванова Светлана Викторовна¹, orcid.org/0000-0002-4378-8569

Садыкова Светлана Васильевна¹, orcid.org/0009-0004-8301-851X

¹Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Россия

²Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана, Россия

РЕФЕРАТ

Хламидиоз сельскохозяйственных животных – инфекционное заболевание, которое представляет потенциальную угрозу здоровью человека из-за возможности заболевания в результате контакта с инфицированными животными и птицами. До настоящего времени основным методом профилактики и борьбы с инфекцией, остается вакцинация. В настоящее время встает вопрос разработки профилактических вакцин, содержащих в своем составе антигены, позволяющие создать стойкий иммунитет у большинства видов сельскохозяйственных животных, что расширит круг потребителей за счет экономической выгоды. В работе представлены результаты исследований подбора антигенов из штаммов возбудителя хламидиоза, которые будут служить основой при конструировании профилактического препарата, защищающего от заражения инфекцией. Антигены получали из штаммов выделенных от различных видов животных с отличающимися формами патологии. *Chl. psittaci* культивировали на развивающихся куриных эмбрионах, антигены получали из желточных оболочек, инактивировали и очищали. Полученные антигены изучали на стерильность, безвредность, антигенную активность и иммуногенность для лабораторных животных. Подбор консорциума проводили на основе проведенных исследований. В качестве компонентов для будущей поливидовой вакцины против хламидиоза сельскохозяйственных животных отобраны антигены из штаммов 250, РС-85, АМК-16 *Chl. psittaci*.

Ключевые слова: хламидиоз, сельскохозяйственные животные, антигены, вакцина.

ВВЕДЕНИЕ

Хламидии – облигатные грамотрицательные, внутриклеточные патогены, которые инфицируют эукариотические клетки [6].

Хламидиоз сельскохозяйственных животных – заболевание различных видов животных, характеризующееся у молодняка ринитом, бронхопневмонией, гастроэнтеритом, полиартритом, кератоконъюнктивитом, энцефаломиелитом, у взрослых животных – абортными, задержанием последа, эндометритами, маститами и рождением нежизнеспособного молодняка [5].

Хламидии семейства Chlamydiaceae поражают большинство видов животных и представляют потенциальную угрозу здоровью человека из-за возможности заражения в результате контакта с инфицированными животными и птицами [6].

Основным методом борьбы с инфекцией, на сегодняшний день, остается вакцинопрофилактика, которая направлена, прежде всего, на сохранение здоровья человека и животных, а так же предотвращение огромных экономических потерь [2,3].

Для специфической профилактики хламидиоза разработан целый ряд препаратов отечественного и зарубежного производства. ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» на протяжении многих лет занимается проблемами профилактики и диагностики хламидиозов сельскохозяйственных животных. Здесь в качестве профилактических средств были разработаны «Вакцина против хламидиоза крупного рогатого скота инактивированная эмульсионная», «Вакцина против хлами-

диоза свиней инактивированная эмульсионная», которые успешно внедрены в ветеринарную практику и на протяжении многих лет используются для профилактики данной инфекции [4,1].

В настоящее время совершенно очевиден приоритет разработки профилактических вакцин, которые будут содержать в своем составе антигены, позволяющие создать стойкий иммунитет у большинства видов сельскохозяйственных животных, что расширит круг потребителей за счет экономической выгоды. Для этого необходимо провести работу по подбору антигенов, которые будут служить основой будущей вакцины.

В связи с вышеизложенным, целью являлось проведение работы по подбору консорциума антигенов из различных штаммов возбудителя инфекции для создания профилактического препарата, который будет защищать от заражения хламидийной инфекцией большинство видов сельскохозяйственных животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали следующие штаммы *Chl. psittaci*: 250 – возбудитель аборта коров, РС-85 – возбудитель аборта свиней, Ростиново-70 – возбудитель аборта овец и АМК-16 – возбудитель аборта коз, которые выделены в разное время от различных видов сельскохозяйственных животных с инфекционным титром 10-5 – 10-6,5 ЭЛД 50 в 0,3 мл.

Культивирование *Chl. psittaci* проводили на развивающихся куриных эмбрионах 6-7-дневного возраста. При заражении использовали

Таблица 1.

Антигенные свойства штаммов *Chl. psittaci*

Сыворотки крови морских свинок к антигенам из штаммов	Антиген из штамма АМК-16
АМК-16	80*
Ростиново-70	80*
250	40*
РС-85	40*

Обозначение: *- обратная величина титров

Таблица 2.

Иммуногенные свойства антигенов штаммов *Chl. psittaci*

Антиген из штамма	Средний % выживаемости после контрольного заражения вирулентной суспензией <i>Chl. psittaci</i> АМК-16
АМК-16	93
Ростиново-70	90
250	68
РС-85	60

хламидиосодержащую суспензию желточных мешков каждого штамма, разведенную до концентрации 10-2. Инкубацию эмбрионов проводили при 37-38 °С в течение 5 суток, затем их умерщвляли, охлаждая до 4 °С в течение 18 часов, вскрывали и отбирали аллантоисную жидкость. Для освобождения от эритроцитов и тканевых фрагментов аллантоисную жидкость центрифугировали при 2000 об/мин в течение 30 минут. Наличие хламидий оценивали микроскопией мазков, предварительно окрашенных по модифицированному методу Стемпа.

С целью инактивации хламидий использовали нейтральный формалин в конечной концентрации 0,2 %, выдерживая в течение 48 часов при температуре 37 °С. Полноту инактивации *Chl. psittaci* каждого штамма изучали путем заражения развивающихся куриных эмбрионов.

Полученные инактивированные антигены изучали на стерильность, безвредность, антигенную активность и иммуногенность для лабораторных животных.

Стерильность определяли методом прямого посева на питательные среды: МПА, МПБ, среда Китта-Тароцци, агар Сабуру. Посевы выдерживали в течение 14 дней при температуре 37 °С. Результат оценивали по наличию или отсутствию колоний культур микроорганизмов на питательных средах.

Безвредность инактивированных антигенов определяли постановкой биопробы на лабораторных животных. Подготовленные пробы вводили внутривенно 10 белым мышам в объеме 0,25 см³. Наблюдение за опытными животными вели в течение 10 суток. Полученные инактивированные антигены считали безвредными, если животные оставались клинически здоровыми в течение всего времени наблюдения.

Антигенную активность изучали в перекрестном исследовании гипериммунных сывороток крови морских свинок, полученных на инактивированные антигены *Chl. psittaci* 250, РС-85, Ростиново-70 и АМК-16 в реакции связывания комплемента (РСК). В качестве специфического антигена использовали антиген *Chl. psittaci* АМК-16.

Иммуногенность изучали на белых мышках

массой 16-18 г. Были созданы 5 групп по 20 голов в каждой. Животным 4 опытных групп дважды с интервалом 14 дней внутривенно в объеме 0,5 мл, вводили подготовленные инактивированные антигены из штаммов 250, РС-85, Ростиново-70 и АМК-16. 5 группа - контрольные (интактные) животные. Заражение проводили через 14 суток после последнего введения инактивированных антигенов 10% суспензией, содержащей вирулентную культуру *Chl. psittaci* АМК-16 с инфекционным титром не ниже 10⁵, 0-10⁶, 5 ЭЛД₅₀/0,3 мл.

Уровень иммунитета, созданного инактивированными антигенами из различных штаммов *Chl. psittaci*, по отношению к культуре возбудителя *Chl. psittaci* АМК-16, определяли по устойчивости к заражению.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Из штаммов *Chl. psittaci*: 250, РС-85, Ростиново-70 и АМК-16 изготовлено по 50 мл моноантигенов, которые изучены на стерильность и безвредность.

Исследования инактивированных антигенов на стерильность показали положительный результат - роста на питательных средах в течение 14 суток не наблюдали, пробы стерильны.

При изучении безвредности методом внутривенного введения подготовленных инактивированных антигенов белым мышам, общих и местных реакции не регистрировали. Животные оставались клинически здоровыми в течение 10 суток наблюдения.

Сравнительное изучение антигенной активности полученных инактивированных антигенов *Chl. psittaci* показало следующие результаты: антиген из штамма АМК-16 реагировал с сыворотками к штаммам АМК-16 и Ростиново-70 на один порядок выше (1:80), чем сыворотками к антигенам штаммов 250 и РС-85, что указывает на различные серотипы штаммов хламидий поражающих мелкий рогатый скот и коров, свиней. Данные представлены в таблице 1.

В опыте по изучению иммуногенности штаммов *Chl. psittaci*, выделенных при абортках коз, овец, коров, свиней установили, что двукратное введение лабораторным животным взвеси хлами-

дий с инфекционным титром ЭЛД₅₀ 10-5,5 в объеме 0,3 мл из штаммов АМК-16 и Ростиново-70 предохраняло их от гибели при экспериментальном заражении штаммом АМК-16 в 90-93% случаев. Защита мышей, которым вводили антиген из штамма 250 и РС-85, при заражении их вирусной суспензией штамма АМК-16, была значительно ниже и колебалась в пределах 60-70%. Результаты исследований представлены в таблице 2.

Таким образом, в опытах по изучению иммуногенных свойств полученных антигенов из различных штаммов *Chl. psittaci* установлено, что они обеспечивают у привитых животных формирование разного по напряженности иммунитета.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основываясь на полученных, в ходе проведенных исследований, данных можно заключить, что антигены стерильны, безвредны, обладают антигенной активностью и иммуногенностью для лабораторных животных. Вновь выделенный штамм *Chl. psittaci* АМК-16 отличается от производственных штаммов *Chl. psittaci*: 250, РС-85, Ростиново-70 более высокой активностью. В качестве консорциума для последующего конструирования вакцины поливидовой против хламидиоза сельскохозяйственных животных нами выбраны три антигена *Chl. psittaci*: 250, РС-85, АМК-16, которые выделены от разных видов животных (крупный рогатый скот, свинья, мелкий рогатый скот), и обладают высокой активностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Евстифеев, В.В. Влияние вакцинации против хламидиоза на течение и исход суягности овец и формирование колострального иммунитета / В.В. Евстифеев, С.И. Яковлев, Ф.М. Хусаинов, Г.И. Хусаинова, С.В. Иванова // В сборнике: Актуальные проблемы лечения и профилактики болезней молодняка. Мате-

риалы международной научно-практической конференции. Редколлегия: Н.И. Гавриченко (гл. ред.) [и др.]. Витебск, 2022. С. 79-83.

2. Евстифеев, В.В., Иммунобиологические свойства зоонозного штамма хламидий АМК-16 / В.В. Евстифеев, Ф.М. Хусаинов, С.И. Яковлев, А.К. Галиуллин, С.В. Иванова // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана.- 2023.- Т. 253.- №1.- С. 82-87.

3. Евстифеев, В.В. Разработка ассоциированной вакцины против ирт, пг-3, вд-бс и хламидиоза крупного рогатого скота / В.В. Евстифеев, В.Г. Гумеров, Ф.М. Хусаинов, И.Г. Каримуллина, И.Р. Акбашев, С.И. Яковлев, Р.Х. Равилов // Ветеринарный врач.- 2020.- №6.- С.21-28.

4. Евстифеев, В.В. Специфическая профилактика сельскохозяйственных хламидиоза животных / В.В. Евстифеев, Л.А. Барбарова, Ф.М. Хусаинов // В сборнике: Проблемы профилактики и борьбы с особо опасными, экзотическими и малоизученными инфекционными болезнями животных. Международная научно-практическая конференция, посвященная 50-летию ВНИИВВиМ.- 2008.- С. 240-242.

5. Хусаинов, Ф.М. Распространенность хламидиоза рогатого скота в регионе Среднего Поволжья, Предуралья и специфическая профилактика / Ф.М. Хусаинов, В.В. Евстифеев, Л.А. Барбарова // Ветеринарный врач.- 2013.- №4.- С. 19-22.

6. Oehme, A. Chlamydiae as pathogens - An overview of diagnostic techniques, clinical features, and therapy of human infections / Oehme A., Musholt P. B., Dreesbach K. // Klin. Wochenschr.-69.-1991.-P. 463-473.

7. Wheelhouse, N. Endemic and emerging chlamydial infections of animals and their zoonotic implications / Wheelhouse N, Longbottom D. // Transbound Emerg Dis.-59.-2012.-P.283-291.

SELECTION OF A CONSORTIUM OF *CHLAMYDIA PSITTACI* ANTIGENS FOR THE CONSTRUCTION OF A MULTISPECIES VACCINE AGAINST ANIMAL CHLAMYDIA

Vitaliy V. Evstifeev^{1,2}, orcid. org/0000-0001-9882-3475

Sergiy I. Yakovlev¹, orcid. org/0000-0003-4944-6559

Fidail M. Khusainov¹, orcid. org/0000-0002-3101-7740

Svetlana V. Ivanova¹, orcid. org/0000-0002-4378-8569

Svetlana V. Sadykova¹, orcid. org/0009-0004-8301-851X

¹Federal Centre for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russia

²Kazan Bauman State Academy of Veterinary Medicine, Kazan, Russia

Chlamydia of farm animals is an infectious disease that poses a potential threat to human health due to the possibility of disease as a result of contact with infected animals and birds. To date, vaccination remains the main method of prevention and control of infection. Currently, there is a question of developing preventive vaccines containing antigens in their composition, which make it possible to create stable immunity in most species of farm animals, which will expand the range of consumers due to economic benefits. The paper presents the results of studies on the selection of antigens from strains of the causative agent of chlamydia, which will serve as the basis for the design of a preventive drug that protects against infection. Antigens were obtained from strains isolated from various animal species with different forms of pathology. *Chl. psittaci* was cultured on developing chicken embryos, antigens were obtained from yolk membranes, inactivated and purified. The obtained antigens were studied for sterility, harmlessness, antigenic activity and immunogenicity for laboratory animals. The selection of the consortium was carried out on the basis of the conducted research. Antigens from strains 250, PC-85, АМК-16 *Chl. psittaci* were selected as components for the future polyvid vaccine against chlamydia in farm animals.

Key words: chlamydia, farm animals, antigens, vaccine.

REFERENCES

1. Evstifeev, V.V. The effect of vaccination against chlamydia on the course and outcome of sheep mortality and the formation of colostral immunity / V.V. Evstifeev, S.I. Yakovlev, F.M. Khusainov, G.I. Khusainova, S.V. Ivanova // In the collection: Current problems of treatment and prevention of diseases of young animals. Materials of the

international scientific and practical conference. Editorial board: N.I. Gavrichenko (chief editor) [et al.]. Vitebsk, 2022. pp. 79-83.

2. Evstifeev, V.V., Immunobiological properties of the zoonotic strain of chlamydia АМК-16 / V.V. Evstifeev, F.M. Khusainov, S.I. Yakovlev, A.K. Galiullin, S.V. Ivanova // Scientific notes of the Kazan State Academy of

Veterinary Medicine named after N.E. Bauman.- 2023.- Vol. 253.- No.1.- pp. 82-87.

3. Evstifeev, V.V. Development of an associated vaccine against irt, pg-3, vd-bs and bovine chlamydia / V.V. Evstifeev, V.G. Gumerov, F.M. Khusainov, I.G. Karimullina, I.R. Akbashev, S.I. Yakovlev, R.H. Ravilov // A veterinarian.- 2020.- No.6.- pp.21-28.

4. Evstifeev, V.V. Specific prevention of agricultural chlamydia of animals / V.V. Evstifeev, L.A. Barbarova, F.M. Khusainov // In the collection: Problems of prevention and control of especially dangerous, exotic and poorly studied infectious diseases of animals. International scientific and practical conference dedicated to the 50th anniversary of

VNIIViM.- 2008. - pp. 240-242.

5. Khusainov, F.M. Prevalence of cattle chlamydia in the region of the Middle Volga region, the Urals and specific prevention / F.M. Khusainov, V.V. Evstifeev, L.A. Barbarova // A veterinarian.- 2013. -No. 4.- pp. 19-22.

6. Oehme, A. Chlamydiae as pathogens - An overview of diagnostic techniques, clinical features, and therapy of human infections / Oehme A., Musholt P. B., Dreesbach K. // Klin. Wochenschr.-69.-1991.-P. 463-473.

7. Wheelhouse, N. Endemic and emerging chlamydial infections of animals and their zoonotic implications / Wheelhouse N, Longbottom D. // Transbound Emerg Dis.- 59.-2012.-P.283-291.

УДК 616.98:579

DOI: 10.52419/issn2782-6252.2024.3.47

КАЗЕОЗНЫЙ ЛИМФАДЕНИТ У ОВЕЦ И КОЗ: СЕМИОТИКА И ОПЫТ БОРЬБЫ

Пименов Николай Васильевич, д-р.биол.наук, проф., orcid.org/0000-0003-1658-1949

Алмуслимави Хасан Абдулвахаб М. Д., orcid.org/0000-0001-7852-6617

Иванникова Регина Фановна, канд.биол.наук, доц., orcid.org/0000-0002-3522-0447

Московская Государственная Академия Ветеринарной Медицины и Биотехнологий имени К.И. Скрябина (МГАВМиБ им. К.И. Скрябина), Россия

РЕФЕРАТ

В данной работе на основе проведенного анализа исследовательского опыта различных ученых за последние годы приведено описание как характерной, так и неспецифической картины проявления казеозного лимфаденита, возможные методы борьбы с эпизоотией, в том числе посредством активной иммунизации животных. Существующие данные недостаточно раскрывают патогенез и могут использоваться для предварительной диагностики, а разработанные в ходе многолетних исследований и испытаний методы борьбы не всегда позволяют эффективно решить проблему с эпизоотией, что связано, в том числе с отсутствием вакцин.

Ключевые слова: казеозный лимфаденит, вакцинация, анализ, семиотика, адъювант, антиген, иммунизация, эпизоотия.

ВВЕДЕНИЕ

Казеозный лимфаденит (CLA) – это инфекционное заболевание, вызываемое бактерией *Corynebacterium pseudotuberculosis*, которое поражает лимфатическую систему, приводя к абсцессам в лимфатических узлах и внутренних органах.

Инфекции, вызванные *C. pseudotuberculosis*, у овец и коз классически связаны с образованием пиогранулем, и это объясняет название «казеозный лимфаденит». Характерным клиническим проявлением наружного казеозного лимфаденита является развитие абсцессов в области периферических лимфатических узлов. Распространенными очагами развития инфекции являются подчелюстные, околоушные, предлопаточные и предплюсневые узлы. Реже возникает абсцесс надмаммарных или паховых лимфатических узлов, в дополнение к случайной эктопии вдоль лимфатической цепи. Образующие абсцессы, как правило, не причиняют боли и особого беспокойства животным [1; 2; 4].

При отсутствии лечения поражения со временем перерастают в открытые дренирующие абсцессы. Гнойный экссудат из этих поражений не имеет запаха и варьирует по консистенции от мягкого и пастообразного (чаще встречается у коз) до густого и казеозного (чаще встречается у овец). После естественного дренирования поражение кожи заживает с образованием рубцов [1; 5].

Рецидивы заболевания могут возникать зача-

стую спустя месяцы и представляются обычным явлением. Казеозный лимфаденит следует с высокой степенью вероятности заподозрить у овец или коз с абсцессами в областях, уже ранее вовлеченных в процесс. Хотя абсцессы могут вызывать и другие микроорганизмы, при наличии в стаде или отаре эти случаи следует рассматривать как рецидивирующий казеозный лимфаденит, пока не будет доказано обратное.

Висцеральная форма казеозного лимфаденита обычно проявляется хроническим снижением веса и прекращением роста. Наличие других клинических признаков зависит от вовлеченных в процесс пораженных органов. Такая форма заболевания чаще встречается у овец и получила название «синдром худой овцы».

Абсцесс легкого является наиболее распространенной формой висцерального казеозного лимфаденита. В этих случаях могут отмечаться признаки хронического заболевания легких с кашлем, гнойными выделениями из носа, лихорадкой и тахипноэ с усилением легочных шумов.

Частота абсцессов и развитие клинических признаков, как при внешней, так и при внутренней форме казеозного лимфаденита увеличиваются с возрастом.

При установлении диагноза в неблагополучном хозяйстве вводятся карантинные мероприятия. Организуют систематические клинические осмотры всех животных. Больных изолируют и