

РЕЗУЛЬТАТЫ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ВЕТЕРИНАРИИ ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

УДК: 619:616.98

DOI: 10.52419/issn2782-6252.2025.3.28

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ХЛАМИДИЙНОГО АНТИГЕНА В СОСТАВЕ АССОЦИИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ

Виталий Валерьевич Евстифеев^{1✉}, Ильгизар Рассилович Акбашев², Фидайль Миннигалеевич Хусаинов³,
Сергей Игоревич Яковлев⁴, Разина Зиннатулловна Хамидуллина⁵, Светлана Викторовна Иванова⁶

^{1,2,3,4,5,6}Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Российская Федерация
¹Казанский ГАУ Институт "Казанская академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана", Российская Федерация
¹д-р биол. наук, доц., главный научный сотрудник лаборатории хламидийных инфекций, e-mail:

vit.evstifeev@yandex.ru, orcid.org/0000-0001-9882-3475

²канд. ветеринар. наук, научный сотрудник лаборатории хламидийных инфекций, orcid.org/0000-0001-8587-3713

³д-р ветеринар. наук, доц., ведущий научный сотрудник лаборатории хламидийных инфекций, orcid.org/0000-0002-3101-7740

⁴канд. ветеринар. наук, научный сотрудник лаборатории хламидийных инфекций, orcid.org/0000-0003-4944-6559

⁵младший научный сотрудник лаборатории хламидийных инфекций, orcid.org/0000-0001-8486-2713

⁶канд. ветеринар. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории хламидийных инфекций, orcid.org/0000-0002-4378-8569

РЕФЕРАТ

Инфекционные респираторные болезни крупного рогатого скота являются многофакторными заболеваниями, что в свою очередь обуславливает ассоциированную вирусную или вирусно-бактериальную этиологию течения инфекционного процесса среди различного поголовья продуктивных животных. Исходя из этого, борьба с респираторными ассоциированными инфекциями КРС является серьезной проблемой для животноводческой отрасли в подавляющем большинстве стран мира. Целью исследования явилось усовершенствование «Ассоциированной вакцины против ИРТ, ВД-БС, ПГ-3 и хламидиоза крупного рогатого скота инактивированной эмульсионной» путем расширения антигенного спектра хламидийного антигена биопрепарата.

Стерильность вакцин оценивали согласно «ОФС 1.2.4.0003.15 Общая фармакопейная статья. Стерильность» (п.2.3) методом прямого посева. Безвредность биопрепаратов проводили в соответствии с ГОСТ 31926. Оценка переносимости вакцин проводилась в течение первых 10 суток после иммунизации. О переносимости вакцин судили по отсутствию местной и общей реакции животных на введение биопрепарата. Концентрация антител, специфичных к вирусу ПГ-3, определялась в реакции торможения геммагглютинации (РТГА). Специфические антитела к вирусам ИРТ и ВД-БС определялись в ИФА. Уровень противохламидийных антител в сыворотках крови иммунизированных животных определяли путем постановки реакции связывания комплемента (РСК). Иммуногенность вакцины определяли в остром опыте на белых мышах.

Проведенные исследования показали, что исследуемые вакцины стерильны и безвредны для лабораторных животных. Было установлено, что оба варианта ассоциированной вакцины хорошо переносятся лабораторными животными (кролики). Изменение состава хламидийного антигена ассоциированной вакцины не оказало негативного влияния на формирование противовирусного гуморального иммунитета у лабораторных животных. Уровень специфических противохламидийных антител у животных, иммунизированных усовершенствованной вакциной, был выше, чем в группе кроликов, привитых препаратом, изготовленным по стандартной методике. Индекс защиты в группе белых мышей, привитых усовершенствованным препаратом, был в 1,3 раза выше, по сравнению со стандартным образцом.

Проведенные исследования показали, что изменение композиции хламидийного антигена в составе «Ассоциированной вакцины против ИРТ, ВД-БС, ПГ-3 и хламидиоза крупного рогатого скота» не оказывает негативного эффекта на формирование гуморального противовирусного иммунитета у лабораторных животных. Помимо этого, было доказано, что добавление двух штаммов хламидий в состав ассоциированной вакцины стимулирует выработку гуморального ответа в отношении хламидийного антигена, что способствует повышению иммуногенности вакцины в 1,3 раза.

Ключевые слова: антиген, иммуногенность, штаммы, хламидии, ИРТ, ПГ-3, ВД-БС, ассоциированная вакцина, кролики.

Для цитирования: Евстифеев В.В., Акбашев И.Р., Хусаинов Ф.М., Яковлев С.И., Хамидуллина Р.З., Иванова С.В. Усовершенствование хламидийного антигена в составе ассоциированной вакцины.

IMPROVEMENT OF CHLAMYDIA ANTIGEN IN AN ASSOCIATED VACCINE

Vitaly V. Evstifeev^{1✉}, Ilgizar R. Akbashev², Fidail M. Khusainov³, Sergey Ig. Yakovlev⁴, Razina Z. Khamidullina⁵, Svetlana V. Ivanova⁶

^{1,2,3,4,5,6} Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Russian Federation

¹ Kazan State Agrarian University Institute "Kazan Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman", Russian Federation

¹ Dr. of Biological Sciences, Assoc. Prof., Chief Researcher, Laboratory of Chlamydial Infections, e-mail: vit.evstifeev@yandex.ru, orcid.org/0000-0001-9882-3475

² Candidate of Veterinary Sciences, Researcher, Chlamydial Infections Laboratory, orcid.org/0000-0001-8587-3713

³ Dr. of Veterinary Sciences, Assoc. Prof., Leading Researcher, Chlamydial Infections Laboratory, orcid.org/0000-0002-3101-7740

⁴ Candidate of Veterinary Sciences, Researcher, Chlamydial Infections Laboratory, orcid.org/0000-0003-4944-6559

⁵ Junior Researcher, Chlamydial Infections Laboratory, orcid.org/0000-0001-8486-2713

⁶ Candidate of Veterinary Sciences, leading researcher at the laboratory of chlamydial infections, orcid.org/0000-0002-4378-8569

ABSTRACT

Infectious respiratory diseases of cattle are multifactorial; they usually have a viral or viral-bacterial etiology and can spread rapidly among productive animals. Consequently, controlling respiratory infections in cattle is a major challenge for the livestock industry worldwide. Purpose of the study is improvement the "Associated vaccine against IRT, VD-BS, PG-3 and bovine chlamydiosis, inactivated emulsion" by expanding the antigenic spectrum of the chlamydial antigen.

The sterility of the vaccines was evaluated according to "OFS 1.2.4.0003.15 General Pharmacopoeia article. Sterility" (section 2.3) by direct inoculation. Safety was assessed in accordance with State Standard 31926. Tolerability was monitored for the first 10 days after immunization. The tolerance of vaccines was judged by the absence of a local and general reaction of animals to the introduction of the biological product. PG-3-specific antibody titers were determined by hemagglutination inhibition test (HIT). Specific antibodies to the IRT and VD-BS viruses were determined in ELISA. Anti-chlamydial antibodies were quantified by complement fixation test (CFT). Vaccine immunogenicity was evaluated in an acute experiment with white mice.

All vaccine batches proved sterile and safe for laboratory animals. Both vaccine formulations were well tolerated by rabbits. Altering the chlamydial antigen composition did not impair antiviral humoral immunity. Rabbits receiving the improved vaccine developed higher anti-chlamydial antibody titers than those vaccinated with the standard formulation. The protection index in white mice immunized with the improved vaccine was 1.3-fold higher than in mice receiving the standard vaccine.

Modifying the chlamydial antigen composition in the "Associated vaccine against IRT, VD-BS, PG-3 and bovine chlamydiosis" did not adversely affect the development of antiviral humoral immunity. Inclusion of two additional chlamydial strains enhanced the humoral response to chlamydial antigen and increased overall vaccine immunogenicity by 1.3-fold.

Key words: antigen, immunogenicity, strains, chlamydia, IRT, PG \ -3, VD \ - BS, associated vaccine, rabbits.

For citation: Evstifeev V.V., Akbashev I.R., Khusainov F.M., Yakovlev S.I., Khamidullina R.Z., Ivanova S.V. Improvement of the chlamydial antigen in the composition of an associated vaccine. Legal regulation in veterinary medicine. 2025; 3:28–37. (in Russ) <https://doi.org/10.52419/issn2782-6252.2025.3.28>

ВВЕДЕНИЕ

Инфекционные респираторные и кишечные болезни молодняка крупного рогатого скота представляют собой серьезную проблему для животноводческих хозяйств по всей России. В их этиологии участвуют несколько возбудителей одновременно, представляющие, как правило, устойчивые ассоциации вирусных и бактериальных агентов, вызывающие различные по проявлению и тяжести течения заболевания [1, 2, 3].

Несомненно, что борьба с респираторными ассоциированными инфекциями КРС является серьезной проблемой для животноводческой отрасли в подавляющем большинстве стран мира [3, 4, 5]. Немаловажным фактором, обуславливающим важность и необходимость усовершенствования способов борьбы и профилактики респираторных инфекций крупного рогатого скота, является и экономическая сторона вопроса, так как

животноводческие комплексы несут огромные финансовые потери в связи с широким распространением ассоциированных инфекций [6, 7].

Возбудители вирусных заболеваний обычно вызывают первичную инфекцию, которая, как правило, сначала протекает в легкой форме [6, 9]. На этом этапе течения болезни происходит подавление иммунитета, что впоследствии приводит к повышению восприимчивости к вторичным бактериальным инфекциям [8, 10]. Однако, справедливо заметить, что в некоторых случаях алгоритм развития инфекционного процесса может протекать иначе и в качестве патогена, вызвавшего первичную инфекцию, могут выступать некоторые бактерии, как правило те, которые способны к длительному персистированию в инфицированном организме, не вызывая при этом ярко выраженных клинических признаков инфекции, какими, например, являются и хламидии [11].

Хламидии — облигатные внутриклеточные паразиты с уникальным двухэтапным циклом развития [12]. Эти микроорганизмы способны инфицировать огромное количество видов животных. Течение инфекционного процесса при хламидиозе даже в разных популяциях одного вида животного, как правило, не имеет системы [13]. Это обусловлено эволюционной способностью данного вида микроорганизмов поражать разнообразные системы органов животных, вызывая при этом различные клинические признаки болезни (пневмонии, артриты, конъюнктивиты, энцефалиты и др.). Помимо этого, хламидии способны передаваться от одного вида животного другому, что также играет важную роль в широком распространении этой инфекции среди домашних и диких животных [14, 15].

Наиболее распространенными вирусными патогенами на территории РФ являются возбудители таких инфекций, как инфекционный ринотрахеит (ИРТ), парагрипп-3 (ПГ-3) и вирусная диарея (ВД-БС) [16, 17].

Ранее коллективом ученых Федерального центра токсикологической, радиологической и биологической безопасности была разработана ассоциированная вакцина против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи — болезни слизистых, парагриппа-3 и хламидиоза крупного рогатого скота инактивированная эмульсионная» [18]. Антигенный состав этого биопрепарата включал в себя по одному штамму вирусов ИРТ, ПГ-3, ВД-БС и штамм хламидий *Chlamydia psittaci* «250», выделенный от крупного рогатого скота.

В ходе проведения многолетних прикладных и фундаментальных исследований, связанных с изучением хламидийных инфекций животных, было установлено, что разные штаммы хламидий одного вида, выделенные при разных патологиях от одного и того же вида животных или от других сельскохозяйственных животных, отличаются друг от друга в антигенном отношении. Эти различия в биохимическом и генетическом строении хламидий напрямую коррелируют с иммуногенностью разных штаммов по отношению друг к другу [18]. Также установлен факт наличия у хламидий способности к горизонтальному переносу генов среди разных видов этого возбудителя, благодаря чему некоторые штаммы хламидий в своем биохимическом составе могут содержать некоторые антигенные эпитопы, специфичные для других видов этого патогена [19].

Ранее нами были изучены антигенные и иммуногенные свойства разных штаммов хламидий, выделенных на территориях различных субъектов РФ. В ходе проведения этих исследований нами была сконструирована новая антигенная композиция, состоящая из трех наиболее иммуногенных и отличающихся в антигенном отношении штаммов хламидий, выделенных от разных видов животных. Помимо этого, после полногеномного секвенирования и последующего проведения биоинформационного анализа нуклеотидной последовательности хромосомы одного из штаммов, входящих в новую антигенную композицию, было установлено, что этот

штамм содержит в своем составе антигенные эпитопы, специфичные сразу к двум видам хламидий (*Chlamydia psittaci* и *Chlamydia abortus*) [20]. В связи с этим, перспективно было применить в составе ассоциированной вакцины новую композицию хламидийного антигена, включающую три штамма хламидий, что и было сделано.

Таким образом, в состав «Ассоциированной вакцины против ИРТ, ВД-БС, ПГ-3 и хламидиоза крупного рогатого скота инактивированной эмульсионной» были включены антигены еще двух штаммов хламидий — «АМК-16» — возбудитель артрита и аборта коз и «МЗ-89» — возбудитель менингоэнцефалита телят. При этом количественное соотношение антигенов разных видов возбудителей в составе вакцины осталось прежним.

Теперь, предстояло выяснить, как повлияло изменение композиции хламидийного антигена на антигенную активность и протективные свойства ассоциированной вакцины против ИРТ, ВД-БС, ПГ-3 и хламидиоза крупного рогатого скота.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на базе лаборатории вирусных заболеваний животных ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ».

Штаммы. В исследовании использовались следующие штаммы вирусов и хламидий:

- Штамм «ВК-1» вируса ВД-БС, инфекционный титр 10⁶–10⁷ ТЦД₅₀/мл;
- Вакцинный штамм «ТК-А (ВИЭВ)-В-2» вируса ИРТ крупного рогатого скота;
- Референтный штамм «ПТК-45/86» вируса ПГ-3 крупного рогатого скота;
- штамм *Chlamydia psittaci* «АМК-16», выделенный из патологического материала абортировавшей козы;
- штамм *Chlamydia psittaci* «250», выделенный из патологического материала абортировавшей коровы;
- штамм *Chlamydia psittaci* «МЗ-89», выделенный из мозга теленка при энцефалитной форме течения хламидийной инфекции;
- штамм *Chlamydia psittaci* «РС-85», выделенный из патологического материала абортировавшей свиньи;

Питательные среды. Стерильность биопрепаратов оценивали путем их посева на питательные среды: мясопептонный агар (МПА), мясопептонный бульон (МПБ), мясопептонный печеночный бульон и среду «Сабуро».

Для культивирования и поддержания культуры клеток использовались следующие питательные среды:

- синтетическая среда 199;
- сбалансированный раствор Хенкса;
- эмбриональная сыворотка крупного рогатого скота, изготовленная ВНИВИ;
- среда Игла MEM (Minimum Essential Medium) с глутамином, pH 7,5–7,6.

Культуры клеток. Культивирование вирусов осуществляли на перевиваемой культуре клеток почки быка «MDBK».

Биологические модели. Биомассу хламидий получали путем заражения куриных эмбрионов штаммами хламидий в желточный мешок.

Безвредность и иммуногенность вакцин оценивали на белых мышах.

Переносимость и антигенную активность исследуемых биопрепаратов изучали на кроликах.

В ходе проведения экспериментальных манипуляций с животными были соблюдены требования Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях. Животные содержались в оптимальных условиях, имели свободный доступ к кормам и воде.

Реактивы и тест-системы. Серологические исследования проводили с применением следующих диагностических тест-систем:

- «Набор антигенов и сывороток для серологической диагностики хламидиозов сельскохозяйственных животных» (РОСС RU.ФВ01.Н00022) производства ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» (г. Казань);

- «Набор для диагностики парагриппа-3 крупного рогатого скота» (ФКП «Курская биофабрика – Фирма «БИОК»)

- «Набор для выявления антител к вирусу инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота иммуноферментным методом «ИРТ-СЕРОТЕСТ», (ООО «Ветбиохим», г. Москва);

- «Набор для иммуноферментной диагностики вирусной диареи-болезни слизистых (ВД-БС) крупного рогатого скота», (ВИЭВ, г. Москва).

Методы. Для проведения исследования были изготовлены два различных по антигенному составу варианта ассоциированной вакцины. Первая (стандартная) серия биопрепарата включала в себя штаммы вирусов: ПГ-3 – «ПТК-45/86», ВД-БС – «ВК-1», ИРТ – «ТК-А (ВИЭВ)-В-2» и хламидий – «250». При изготовлении второй (экспериментальной) серии вакцины использовались аналогичные штаммы вирусов, а в состав хламидийного антигена были добавлены еще два штамма «АМК-16» и «МЗ-89». Количество антигенов всех штаммов в хламидийном антигене находились в равных пропорциях. В готовых обоих вариантах вакцины антигены вирусов и хламидий были представлены в равном соотношении: ПГ-3, ИРТ, ВД-БС и хламидии в пропорции 1:1:1:1. В качестве вспомогательного компонента при создании каждой серии вакцины использовали масло-ланолиновый адъювант (МЛА). Эмульсия вакцины представляла собой систему вода-масло.

Определение стерильности вакцины проводили в соответствии с «ОФС 1.2.4.0003.15 Общая фармакопейная статья. Стерильность» (п.2.3) методом прямого посева.

Определение безвредности экспериментальных препаратов проводили в соответствии с ГОСТ 31926.

Исследования безвредности каждой серии вакцины проводили на 15 белых мышах в возрасте от 2 до 3 месяцев с живой массой от 18 до 25 гр.

Подготовленные пробы исследуемых препаратов вводили белым мышам внутривентально, в объеме 0,25 см³. Далее, на протяжении 10 сут после введения вакцины, проводили ежедневные клинические осмотры привитых животных с целью выявления больных или павших особей.

Вакцина считалась безвредной, если на протяжении всего срока наблюдения за животными у них не выявляли ухудшение общего состояния или не фиксировали случаи гибели белых мышей.

В качестве лабораторной модели для оценки переносимости и антигенной активности вакцин использовались кролики. Из животных были сформированы три группы по четыре особи в каждой. Первую группу животных иммунизировали стандартной серией вакцины, активный компонент которой был представлен тремя штаммами вирусов и одним штаммом хламидий. Вторую группу кроликов вакцинировали экспериментальной серией ассоциированной вакцины, спектр хламидийного антигена которой был расширен путем добавления двух штаммов хламидий («АМК-16», «МЗ-89»). Животные третьей группы вакцинации не подвергались и являлись контролем. Биопрепараты животным вводили внутримышечно в область бедра в объеме 0,5 см³.

При оценке переносимости вакцин кроликами учитывали следующие показатели:

- ♦ общее состояние животных;

- ♦ общая температура тела животных после иммунизации;

- ♦ наличие местной реакции на месте введения вакцины;

- ♦ изменения аппетита у животных после иммунизации;

- ♦ поведенческие реакции.

Оценка переносимости вакцин проводилась в течение первых 10 суток после иммунизации. Ежедневно, в ходе проведения клинических осмотров животных, фиксировались и учитывались вышеперечисленные показатели.

Общая температура тела животных измерялась при помощи медицинского ртутного термометра.

Общее состояние животных оценивали визуально в ходе проведения клинических осмотров животных. Основное внимание обращали на позы животных, их шерстный покров и походку.

Об аппетите животных судили по наличию или отсутствию корма в кормушках после кормления.

О переносимости вакцин судили по отсутствию местной и общей реакции животных на введение биопрепарата.

Оценку антигенной активности вакцин проводили при помощи серологических реакций. Для этого у животных систематически в течение шести месяцев (на 30, 60, 90 и 180 сутки после вакцинации) отбирались пробы сывороток крови. Концентрация антител, специфичных к вирусу ПГ-3, определялась в реакции торможения гемагглютинации (РТГА). Уровень противохламидийных антител в сыворотках крови иммунизированных животных определяли путем постановки реакции связывания комплемента (РСК). Специфические антитела к вирусам ИРТ и ВД-БС определялись при помощи иммуноферментного анализа (ИФА).

Способность вакцин вызывать выработку противохламидийного иммунитета у иммунизированных животных определяли в остром опыте на белых мышах. Для каждой серии вакцины были сформированы по четыре опытные группы

лабораторных животных, по 15 особей в каждой (всего 8 опытных групп) и четыре контрольных группы. Животным опытных групп вводили исследуемые препараты подкожно в объеме 0,2 см³. На 30 сутки после иммунизации животные всех групп были заражены различными штаммами хламидий. Первые опытные группы мышей заражали штаммом «АМК-16», вторые – «РС-85», третьи – «250», четвертые – «МЗ-89». Контрольная группа была инфицирована аналогичным способом.

Об иммуногенности биопрепаратов судили по индексу защиты, который вычисляли по формуле:

$$X = \frac{A}{B} \quad (1)$$

Где X – Индекс защиты; А – Количество павших животных в контрольной группе; В – Количество павших животных в иммунизированной группе.

Для подтверждения хламидийной этиологии гибели инфицированных мышей проводили исследование мазков-отпечатков под иммерсионной системой светового микроскопа. Мазки-отпечатки готовили из внутренних органов павших животных и окрашивали по модифицированному методу Стемпа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе изготовленные серии вакцин исследовали на стерильность и безвредность.

Высевом проб двух вакцин (усовершенствованной и стандартной) на питательные среды МПА, МПБ, МППБ и Сабуро было установлено отсутствие роста микрофлоры на питательных средах в течение срока наблюдения, что подтверждало стерильность испытуемых препаратов.

Изучение безвредности экспериментального и стандартного образцов вакцин путем введения экспериментальных препаратов белым мышам не вызывало у них никаких побочных реакций и негативных патологических процессов в течение срока наблюдений, что указывает на безвредность препаратов.

Следующими этапами исследования явились оценка переносимости вакцин кроликами и изучение антигенной активности экспериментального и стандартного вариантов вакцины.

Так, наблюдения за иммунизированными и интактными кроликами показали, что на протяжении всего срока исследования средняя температура тела животных двух опытных, вакцинированных разными вариантами ассоциированной вакцины, и контрольной групп практически не изменялась, и изучаемые показатели находились в пределах физиологической нормы. При этом средняя температура тела всех кроликов находилась в пределах от плюс 38,8 °С до плюс 39,0 °С. Принципиальной разницы в температурных показателях кроликов опытных и контрольной групп зафиксировано не было.

При проведении ежедневных клинических осмотров иммунизированных кроликов относительно интактных кроликов, патологических состояний у вакцинированных животных выявлено не было. Общее состояние животных было удовлетворительным, аппетит сохранен, аномальные

поведенческие реакции отсутствовали. На месте введения биопрепаратов у животных опытных групп наблюдалась небольшая припухлость, которая рассасывалась в течение 10 - 15 суток после прививки, что допустимо при иммунизации эмульсионными вакцинами.

На основании полученных данных было сделано заключение, что оба варианта ассоциированной вакцины хорошо переносятся лабораторными животными.

Далее необходимо было проверить, как изменение композиционного состава хламидийного антигена будет влиять на формирование поствакцинального гуморального иммунитета. Для этого были проведены серологические исследования на установление уровня специфических антител к антигенам, использованным в составе вакцины, в крови кроликов в разные сроки после иммунизации экспериментальным и стандартным образцами ассоциированных вакцин. Результаты серологических исследований представлены в таблице 1.

До иммунизации у животных опытных групп, а также у животных контрольной группы специфические антитела к вирусам ИРТ, ПГ-3, ВД-БС и хламидиям выявлены не были. Из данных, представленных в таблице 1, видно, что вакцинация кроликов различными вариантами исследуемых биопрепаратов вызвала у них выработку как противовирусных, так и противохламидийных антител. На 30 сутки после вакцинации уровень иммуноглобулинов специфичных к вирусу парагриппа-3 у животных, иммунизированных стандартным препаратом, варьировался в пределах титров от 1:80 до 1:320. У всех кроликов, иммунизированных экспериментальным препаратом на этот срок исследования титры антител к вирусу ПГ-3 были равны 1:160. Средние титры иммуноглобулинов к вирусу ПГ-3 в двух группах были равны титру 1:160. Концентрация противовирусных антител, специфичных к вирусу инфекционного ринотрахеита, в двух группах на 30 сутки исследования находилась в пределах титров от 1:400 до 1:1600. Также не было выявлено значительной разницы в формировании гуморального иммунитета к вирусу ВД-БС. На 30 сутки исследования иммуноглобулины, специфичные к этому вирусу, находились в пределах титров от 1:800 до 1:1600. Небольшая разница была выявлена на 30 сутки после вакцинации при формировании гуморального противохламидийного иммунитета. В группе животных, иммунизированных стандартным препаратом, у всех животных концентрация комплементсвязывающих иммуноглобулинов находилась на уровне равном титру 1:20. В группе животных, иммунизированных экспериментальным препаратом, средний титр антител был несколько выше и равнялся титру 1:30. Также следует отметить, что самая низкая концентрация как противовирусных, так и противохламидийных иммуноглобулинов была выявлена на 30 сутки после вакцинации.

В течение двух последующих месяцев в сыворотках крови иммунизированных животных наблюдали увеличение концентрации антител, специфичных ко всем антигенам, входящим в

Таблица 1. Результаты изучения антигенной активности стандартного и экспериментального вариантов ассоциированной вакцины против ПГ-3, ИРТ, ВД-БС и хламидиоза крупного рогатого скота.

Table 1. Results of the study of the antigenic activity of the standard and experimental versions of the associated vaccine against PG-3, IRT, VD-BS and chlamydia in cattle.

Антиген / Тест	Вариант вакцины	Номер животного	До вакцинации	Титры антител			
				30 суток	60 суток	90 суток	180 суток
ПГ-3 / РТГА	Стандарт	1	-	1:80	1:1280	1:1280	1:1280
		2	-	1:80	1:640	1:1280	1:1280
		3	-	1:160	1:640	1:640	1:640
		4	-	1:320	1:640	1:2560	1:2560
		Средний титр	-	1:160	1:800	1:1440	1:1440
	Эксперимент	1	-	1:160	1:1280	1:1280	1:1280
		2	-	1:160	1:1280	1:2560	1:2560
		3	-	1:160	1:640	1:1280	1:640
		4	-	1:160	1:320	1:1280	1:640
		Средний титр	-	1:160	1:880	1:1600	1:1280
ИРТ / ИФА	Стандарт	1	-	1:1600	1:3200	1:6400	1:6400
		2	-	1:400	1:3200	1:3200	1:3200
		3	-	1:800	1:1600	1:6400	1:3200
		4	-	1:800	1:1600	1:6400	1:6400
		Средний титр	-	1:900	1:2400	1:5600	1:4800
	Эксперимент	1	-	1:400	1:400	1:1600	1:1600
		2	-	1:400	1:1600	1:6400	1:3200
		3	-	1:1600	1:3200	1:6400	1:6400
		4	-	1:1600	1:3200	1:6400	1:6400
		Средний титр	-	1:1000	1:2100	1:5200	1:4400
ВД-БС / ИФА	Стандарт	1	-	1:1600	1:6400	1:6400	1:3200
		2	-	1:1600	1:1600	1:3200	1:6400
		3	-	1:800	1:800	1:1600	1:1600
		4	-	1:800	1:1600	1:3200	1:1600
		Средний титр	-	1:1200	1:2600	1:3600	1:3200
	Эксперимент	1	-	1:800	1:1600	1:3200	1:800
		2	-	1:1600	1:3200	1:3200	1:3200
		3	-	1:1600	1:3200	1:6400	1:6400
		4	-	1:800	1:800	1:1600	1:1600
		Средний титр	-	1:1200	1:2200	1:3600	1:3000
Хламидиоз / РСК	Стандарт	1	-	1:20	1:20	1:80	1:80
		2	-	1:20	1:20	1:40	1:40
		3	-	1:20	1:20	1:80	1:80
		4	-	1:20	1:40	1:40	1:40
		Средний титр	-	1:20	1:20	1:60	1:60
	Эксперимент	1	-	1:20	1:40	1:80	1:80
		2	-	1:40	1:80	1:160	1:80
		3	-	1:20	1:20	1:80	1:80
		4	-	1:40	1:40	1:80	1:80
		Средний титр	-	1:30	1:45	1:100	1:80

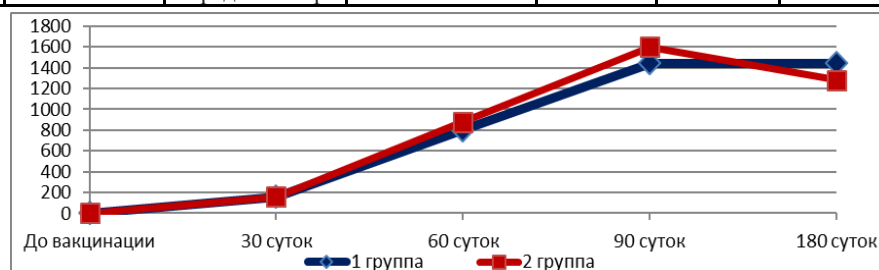


Рисунок 1. Средние титры противовирусных антител, специфичных к возбудителю ПГ-3.

Figure 1. Average titers of antiviral antibodies specific to the causative agent of PG-3.

состав ассоциированной вакцины.

Так, на 90 суток к вирусу ПГ-3 в РТГА были установлены средние титры антител на уровне 1:1440 и 1:1600 к стандартному и экспериментальному вариантам вакцины соответственно. Средние титры специфических антител к вирусу

ИРТ в ИФА в этот промежуток времени находились в пределах титров 1:5600 для стандартного образца вакцины и 1:5200 для экспериментального. К вирусу ВД-БС на 90 суток после вакцинации средние титры противовирусных антител в обеих группах равнялись титру 1:3600.

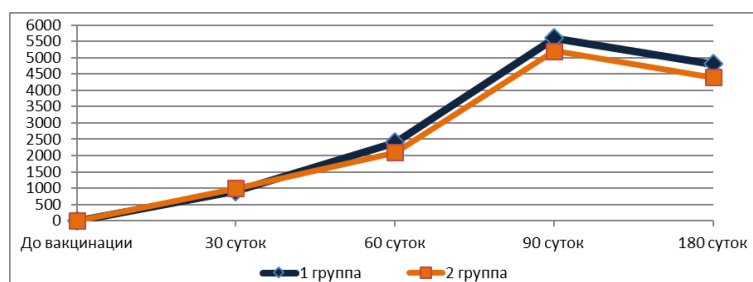


Рисунок 2 Средние титры противовирусных антител, специфичных к возбудителю ИРТ.
Figure 2. Average titers of antiviral antibodies specific to the causative agent of IRT.

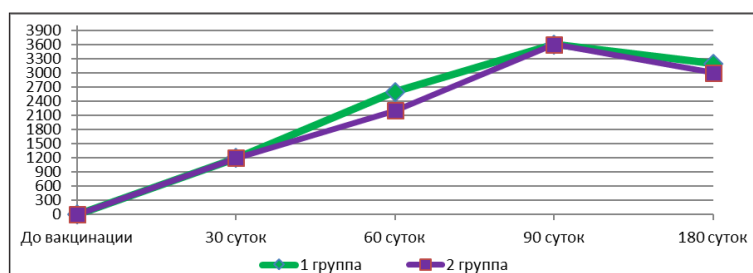


Рисунок 3. Средние титры противовирусных антител, специфичных к возбудителю ВД-БС.
Figure 3. Average titers of antiviral antibodies specific to the causative agent of VD-BS.

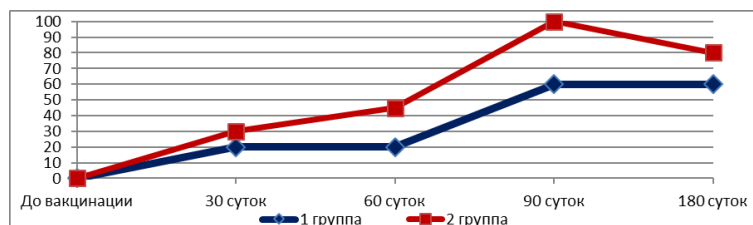


Рисунок 4. Средние титры противохламидийных антител.
Figure 4. Average titers of antichlamydial antibodies.

Таблица 2. Результаты изучения иммуногенности стандартного и экспериментального образцов вакцин в остром опыте на белых мышах.

Table 2. Results of the study of the immunogenicity of standard and experimental vaccine samples in an acute experiment on white mice.

Номер серии вакцины для иммунизации	Штамм для заражения	Количество павших животных	Количество выживших животных	Индекс защиты
Стандарт	«250»	4	11	3,5
	«РС-85»	3	12	4,3
	«АМК-16»	4	11	3,75
	«МЗ-89»	3	12	4,7
Всего по группам		14	46	4
Эксперимент	«250»	3	12	4,7
	«РС-85»	2	13	6,5
	«АМК-16»	2	13	7,5
	«МЗ-89»	2	13	7
Всего по группам		9	51	6,2
Контроль	«250»	14	1	-
	«РС-85»	13	2	-
	«АМК-16»	15	-	-
	«МЗ-89»	14	1	-
Всего по группам		56	4	-

Несколько иная картина наблюдалась при исследовании сывороток крови подопытных кроликов с хламидийным антигеном, где была выявлена существенная разница между уровнем антител в двух группах вакцинированных кроликов. Так, средний титр антител в РСК с хламидийным антигеном в группе животных, вакцинированных стандартным образцом биопрепарата, был равен 1:60, в то время как в группе лабораторных жи-

вотных, иммунизированных экспериментальным препаратом, средний титр был выше и составил 1:100. Следует отметить, что такая картина наблюдалась и в другие сроки исследования, на 60 и 180 сутки.

К 180 суткам, концентрация противовирусных и хламидийных антител в сыворотках крови иммунизированных животных начала снижаться в обеих группах, но всё равно уровень противо-

хламидийных антител в экспериментальной группе находился на более высоком уровне. При этом существенная разница между уровнем антител к специфическим антигенам по группам не выявлялась за исключением хламидийного антигена, к которому более высокий уровень антител выявлялся в группе животных, вакцинированных экспериментальным вариантом вакцины.

В контрольной группе животных на протяжении всего исследования специфические антитела к вирусам и хламидиям выявлены не были.

На рисунках 1, 2, 3 и 4 для наглядности, отдельно по каждому антигену, в виде графиков представлена динамика средних титров специфических антител к вирусным и хламидийному антигенам в течение всего срока наблюдений.

Представленные данные (Рис. 1, 2, 3 и 4) свидетельствуют о том, что изменение состава хламидийного антигена в ассоциированной вакцине не оказало негативного влияния на формирование гуморального противовирусного иммунитета, но позволило повысить выработку специфических противохламидийных антител в сыворотках крови иммунизированных животных.

Далее было необходимо провести сравнительное исследование по оценке иммуногенности стандартного и экспериментального образцов вакцин в остром опыте на белых мышах. Для этого после иммунизации животных проводили их заражение различными штаммами хламидий, изолированными от разных видов животных, различающихся по вирулентности и антигенным характеристикам.

Результаты этих исследований представлены в таблице 2.

Как видно из таблицы 2, из 60 мышей, имму-

низированных стандартной вакциной, после заражения четырьмя штаммами хламидий выжило 46 особей. Индексы защиты в группах белых мышей после инфицирования возбудителями хламидиоза находились в пределах показателей от 3,5 до 4,6. Средний индекс защиты по четырем группам белых мышей, вакцинированных стандартным препаратом, был равен 4.

В группах мышей, иммунизированных усовершенствованной ассоциированной вакциной, количество выживших животных было значительно выше (51 особь). Индексы защиты при заражении разными штаммами хламидий находились в пределах показателей от 4,6 до 7,5. Средний индекс защиты по всем группам, зараженных разными штаммами хламидий и вакцинированных усовершенствованным препаратом, был равен 6,2, что выше в 1,3 раза, по сравнению со стандартным образцом.

В контрольных группах после заражения вирулентной культурой хламидий разных штаммов в живых осталось только 4 (6,7%) из 60 белых мышей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований было доказано, что изменение состава хламидийного антигена ассоциированной вакцины против ИРТ, ВД-БС, ПГ-3 и хламидиоза крупного рогатого скота не оказывает негативного эффекта на формирование гуморального противовирусного иммунитета у лабораторных животных. Одновременно с этим, установлено, что добавление в состав ассоциированной вакцины двух штаммов хламидий стимулирует выработку гуморального ответа в отношении хламидийного антигена, что способствует повышению иммуногенности вакцины в 1,3 раза по сравнению со стандартным образцом.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Murray G.M., Cassidy J.P., Clegg T.A., Tratalos J.A., McClure J., O'Neill R.G., Sammin D.J., Casey M.J., McElroy M., Earley B., Bourke N., More S.J. A retrospective epidemiological analysis of risk factors for a primary necropsy diagnosis of bovine respiratory disease. *Preventive Veterinary Medicine*. 2016;132: 49-56. ISSN 0167-5877. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.08.009>
2. Callaby R., Toye P., Jennings A., Thumbi S.M., Coetzer J.A., Conradie Van Wyk I.C., Hanotte O., Mbole-Kariuki M.N., Bronsvoort B.M., Kruuk L.E., Woolhouse M.E., Kiara H. Seroprevalence of respiratory viral pathogens of indigenous calves in Western Kenya. *Res Vet Sci*. 2016 Oct;108:120-4. doi: 10.1016/j.rvsc.2016.08.010. Epub 2016 Aug 26. PMID: 27663380; PMCID: PMC5040193.
3. Притыченко А.В., Красочко И.А. Иммуногенность инактивированной ассоциированной вакцины против вирусных респираторных инфекций крупного рогатого скота. Актуальные проблемы инфекционной патологии животных и пути их решения : материалы Международной научно-практической конференции, посвященной Дню Белорусской науки и 95-летию кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней, Витебск, 15–16 декабря 2022 года. Витебск: Учреждение образования "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины"; 2023: 95-97.
4. Murray G.M., O'Neill R.G., More S.J., McElroy M.C., Earley B., Cassidy J.P. Evolving views on bovine respiratory disease: An appraisal of selected control measures. Part 2. *The Veterinary Journal*. 2016;217:78-82. ISSN 1090-0233, <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2016.09.013>
5. Bell R.L., Turkington H.L., Cosby S.L. The Bacterial and Viral Agents of BRDC: Immune Evasion and Vaccine Developments. *Vaccines*. 2021; 9(4):337. <https://doi.org/10.3390/vaccines9040337>
6. Grissett G.P., White B.J., Larson R.L. Structured Literature Review of Responses of Cattle to Viral and Bacterial Pathogens Causing Bovine Respiratory Disease Complex. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2015;29(3): 0891-6640, <https://doi.org/10.1111/jvim.12597>
7. Brodersen B.W., Kelling C.L. Effect of concurrent experimentally induced bovine respiratory syncytial virus and bovine viral diarrhoea virus infection on respiratory tract and enteric diseases in calves. *Am J Vet Res*. 1998 Nov;59(11):1423-30. Erratum in: *Am J Vet Res* 1999 Jan;60(1):13. PMID: 9829401.
8. Woolums AR. The bronchopneumonias (respiratory disease complex of cattle, sheep, and goats). In: BL Smith, ed. *Large Animal Internal Medicine*, 5th ed. St. Louis, MO: Mosby Elsevier; 2015: 584–603.
9. Красочко П.А., Красочко П.П., Иващенко И.А. Изучение безвредности различных вариантов ассоциированной вирусно-бактериальной вакцины. Актуальные вопросы ветеринарной вирусологии, микробиологии и болезней пчел в современных условиях : материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 95-

летию со дня рождения доктора ветеринарных наук, профессора Смирновой Нины Ивановны и Дню белорусской науки, Витебск, 07–08 декабря 2023 года. Витебск: Учреждение образования "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины"; 2024:79-84.

10. Глотов А.Г., Глотова Т.И., Нефедченко А.В. Этиологическая структура массовых респираторных болезней молодняка крупного рогатого скота в хозяйствах, занимающихся производством молока // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2008;3(183):72-78.

11. Федорова В.А., Ляпина А.М., Хижнякова М.А., Зайцев С.С., Салтыков Ю.В., Субботина И.А. и др. Хламидиозы животных и человека. М.: Наука; 2019. 135 с.

12. Мустафаева Н.А., Сафарова С.А., Джумшудова Ф.А. Бабанлы Л.Т., Мамедова М.А. Хламидиоз сельскохозяйственных животных. Прикаспийский вестник ветеринарии. 2023; (1): 24–28.

13. Равилов А.З., Гаффаров Х.З., Равилов Р.Х. Хламидиоз животных. Казань: Издательство "Фэн" Академии наук Республики Татарстан; 2004:368 с. ISBN 5-9690-0014-0.

14. Borel N., Sachse K. Zoonotic transmission of *Chlamydia spp.*: Known for 140 years, but still underestimated. Zoonoses: Infections Affecting Humans and Animals. Ed. by A. Sing. Cham: Springer; 2023. https://doi.org/10.1007/978-3-030-85877-3_53-1

15. Притыченко А.В., Красочко И.А. Иммуногенность инактивированной ассоциированной вакцины против вирусных респираторных инфекций крупного рогатого скота. Актуальные проблемы инфекционной патологии животных и пути их решения : материалы Международной научно-практической конференции, посвященной Дню Белорусской науки и 95-летию кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней, Витебск, 15–16 декабря 2022 года. Витебск: Учреждение образования "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины"; 2023: С. 95-97.

16. Акбашев И.Р. Усовершенствование средств специфической профилактики вирусно-хламидийных инфекций крупного рогатого скота : специальность 06.02.02 "Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология" : диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук / Акбашев Ильгизар Расилович; 2021:129 с.

17. Евстифеев В.В., Гумеров В.Г., Хусайнов Ф.М. и др. Разработка ассоциированной вакцины против ИРТ, ПГ-3, ВД-БС и хламидиоза крупного рогатого скота. Ветеринарный врач. 2020;6:21-28. DOI 10.33632/1998-698X.2020-6-21-28

18. Яковлев С.И. Усовершенствование средств специфической профилактики хламидиоза животных : специальность 42.30.00 : диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук; 2022:138 с.

19. Feodorova V.A., Zaitsev S.S., Khizhnyakova M.A. et al. Data of de novo genome assembly of the *Chlamydia psittaci* strain isolated from the livestock in Volga Region, Russian Federation. Data in Brief. 2020;29:105-190. DOI 10.1016/j.dib.2020.105190

20. Feodorova V.A., Zaitsev S.S., Lyapina A.M. et al. Whole genome sequencing characteristics of *Chlamydia psittaci* caprine AMK-16 strain, a promising killed whole cell veterinary vaccine candidate against chlamydia infection. PLoS ONE. 2023;18(10):0293612. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0293612>

REFERENCES

1. Murray G.M., Cassidy J.P., Clegg T.A., Tratalos J.A., McClure J., O'Neill R.G., Sammin D.J., Casey M.J., McElroy M., Earley B., Bourke N., More S.J. A retrospective epidemiological analysis of risk factors for a primary necropsy diagnosis of bovine respiratory disease. Preventive Veterinary Medicine. 2016;132: 49-56. ISSN 0167-5877. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.08.009>

2. Callaby R., Toye P., Jennings A., Thumbi S.M., Coetzer J.A., Conradie Van Wyk I.C., Hanotte O., Mbole-Kariuki M.N., Bronsvort B.M., Kruuk L.E., Woolhouse M.E., Kiara H. Seroprevalence of respiratory viral pathogens of indigenous calves in Western Kenya. Res Vet Sci. 2016 Oct;108:120-4. doi: 10.1016/j.rvsc.2016.08.010. Epub 2016 Aug 26. PMID: 27663380; PMCID: PMC5040193.

3. Pritychenko A.V., Krasochko I.A. Immunogenicity of an inactivated associated vaccine against viral respiratory infections of cattle. Actual problems of infectious pathology of animals and ways of their solution: materials of the International scientific and practical conference dedicated to the Day of Belarusian Science and the 95th anniversary of the Department of Epizootology and Infectious Diseases, Vitebsk, December 15-16, 2022. Vitebsk: Educational Institution "Vitebsk Order of the Badge of Honor" State Academy of Veterinary Medicine "; 2023: 95-97. (in Russ)

4. Murray G.M., O'Neill R.G., More S.J., McElroy M.C., Earley B., Cassidy J.P. Evolving views on bovine respiratory disease: An appraisal of selected control measures. Part 2. The Veterinary Journal. 2016;217:78-82. ISSN 1090-0233, <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2016.09.013>

5. Bell R.L., Turkington H.L., Cosby S.L. The Bacterial and Viral Agents of BRDC: Immune Evasion and Vaccine Developments. Vaccines. 2021; 9(4):337. <https://doi.org/10.3390/vaccines9040337>

6. Grissett G.P., White B.J., Larson R.L. Structured Literature Review of Responses of Cattle to Viral and Bacterial Pathogens Causing Bovine Respiratory Disease Complex. Journal of Veterinary Internal Medicine. 2015;29(3): 0891-6640, <https://doi.org/10.1111/jvim.12597>

7. Brodersen B.W., Kelling C.L. Effect of concurrent experimentally induced bovine respiratory syncytial virus and bovine viral diarrhoea virus infection on respiratory tract and enteric diseases in calves. Am J Vet Res. 1998 Nov;59(11):1423-30. Erratum in: Am J Vet Res 1999 Jan;60(1):13. PMID: 9829401.

8. Woolums AR. The bronchopneumonias (respiratory disease complex of cattle, sheep, and goats). In: BL Smith, ed. Large Animal Internal Medicine, 5th ed. St. Louis, MO: Mosby Elsevier; 2015: 584–603.

9. Krasochko P.A., Krasochko P.P., Ivaschenko I.A. Study of the safety of various variants of an associated viral-bacterial vaccine. Current issues of veterinary virology, microbiology and bee diseases in modern conditions: Proceedings of the International scientific and practical conference dedicated to the 95th anniversary of the birth of Doctor of Veterinary Sciences, Professor Nina Ivanovna Smirnova and the Day of Belarusian Science, Vitebsk, December 7–8, 2023. Vitebsk: Educational Institution "Vitebsk Order of the Badge of Honor" State Academy of Veterinary Medicine "; 2024:79–84. (in Russ)

10. Glotov A.G., Glotova T.I., Nefedchenko A.V. Etiological structure of mass respiratory diseases of young cattle on farms engaged in milk production // Siberian Bulletin of Agricultural Science. 2008;3(183):72-78. (in Russ)

11. Fedorova V.A., Lyapina A.M., Khizhnyakova M.A., Zaitsev S.S., Saltykov Yu.V., Subbotina I.A., et al. Chlamydia in

- animals and humans. Moscow: Nauka; 2019. 135 p. (in Russ)
12. Mustafayeva N.A., Safarova S.A., Dzhumshudova F.A., Babanly L.T., Mamedova M.A. Chlamydia in farm animals. *Caspian Bulletin of Veterinary Science*. 2023; (1): 24–28. (in Russ)
13. Ravilov A.Z., Gaffarov Kh.Z., Ravilov R.Kh. Chlamydia in animals. Kazan: Publishing House "Fen" of the Academy of Sciences of the Republic of Tatarstan; 2004:368 p. (in Russ) ISBN 5-9690-0014-0.
14. Borel N., Sachse K. Zoonotic transmission of *Chlamydia spp.*: Known for 140 years, but still underestimated. *Zoonoses: Infections Affecting Humans and Animals*. Ed. by A. Sing. Cham: Springer; 2023. https://doi.org/10.1007/978-3-030-85877-3_53-1
15. Pritychenko A.V., Krasochko I.A. Immunogenicity of an inactivated associated vaccine against viral respiratory infections in cattle. Current problems of infectious pathology of animals and ways to solve them: Proceedings of the International scientific and practical conference dedicated to the Day of Belarusian Science and the 95th anniversary of the Department of Epizootology and Infectious Diseases, Vitebsk, December 15–16, 2022. Vitebsk: Educational Institution "Vitebsk Order of the Badge of Honor State Academy of Veterinary Medicine"; 2023: pp. 95–97. (in Russ)
16. Akbashev I.R. Improving Specific Means for the Prevention of Viral Chlamydial Infections in Cattle: specialty 06.02.02 "Veterinary Microbiology, Virology, Epizootology, Mycology with Mycotoxicology and Immunology": dissertation for the degree of Candidate of Veterinary Sciences / Akbashev Ilgizar Rasilovich; 2021: 129 p. (in Russ)
17. Evstifeev V.V., Gumerov V.G., Khusainov F.M., et al. Development of an Associated Vaccine against IRT, PG-3, VD-BS, and Chlamydia in Cattle. *Veterinarian*. 2020; 6: 21-28. (in Russ) DOI 10.33632/1998-698X.2020-6-21-28
18. Yakovlev S.I. Improvement of specific means of prevention of chlamydia in animals: specialty 42.30.00: dissertation for the degree of candidate of veterinary sciences; 2022: 138 p. (in Russ)
19. Feodorova V.A., Zaitsev S.S., Khizhnyakova M.A. et al. Data of de novo genome assembly of the *Chlamydia psittaci* strain isolated from the livestock in Volga Region, Russian Federation. *Data in Brief*. 2020;29:105-190. DOI 10.1016/j.dib.2020.105190
20. Feodorova V.A., Zaitsev S.S., Lyapina A.M. et al. Whole genome sequencing characteristics of *Chlamydia psittaci* caprine AMK-16 strain, a promising killed whole cell veterinary vaccine candidate against chlamydia infection. *PLoS ONE*. 2023;18(10):0293612. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0293612>

Поступила в редакцию / Received: 19.08.2025

Поступила после рецензирования / Revised: 19.09.2025

Принята к публикации / Accepted: 30.09.2025

По заявкам ветспециалистов, граждан, юридических лиц проводим консультации, семинары по организационно-правовым вопросам, касающихся содержательного и текстуального анализа нормативных правовых актов по ветеринарии, практики их использования в отношении планирования, организации, проведения, ветеринарных мероприятиях при заразных и незаразных болезнях животных и птиц.

Консультации и семинары могут быть проведены на базе Санкт-Петербургского университета ветеринарной медицины или с выездом специалистов в любой субъект России.

**Тел/факс (812) 365-69-35, Моб. тел.: 8(911) 913-85-49,
e-mail: 3656935@gmail.com**