

РЕЗУЛЬТАТЫ РАЗРАБОТКИ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ САЛЬМОНЕЛЛЕЗНОГО АБОРТА ЛОШАДЕЙ

М.П. Неустроев, доктор ветеринарных наук,
С.Г. Петрова, кандидат ветеринарных наук

*Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства имени М.Г. Сафронова,
677001, Якутск, ул. Бестужева-Марлинского, 23/1
E-mail: mneyc@mail.ru*

*В целях специфической профилактики сальмонеллезного аборта лошадей разработана инактивированная вакцина из штамма *Sal. abortus equi* БН-12 с фугатом штамма *Bac. Subtilis* ТНП-3 в качестве иммуномодулятора. Доклинические испытания проведены на лабораторных белых мышах, клинические – на лошадях. Установлено отсутствие токсичности препарата. Иммуногенность на белых мышах составила 90%, на кобылах – 100%. Производственные испытания вакцины показали, что после иммунизации деловой выход жеребят повышается на 13,8%. Экономическая эффективность использования вакцины с фугатом штамма *Bac. Subtilis* ТНП-3 на 1 руб. затрат составила 14,1 руб., что выше в 1,8 раза по сравнению с применением вакцины с полирибонатом. Установлено, что введение инактивированной вакцины со штаммом бактерий *Bac. subtilis* ТНП-3 является эффективным методом профилактики инфекционных абортов. По результатам исследований разработана научно-техническая документация и представлена для рассмотрения в Россельхознадзор. Утверждена Инструкция по применению вакцины и выдано Регистрационное удостоверение (71-1-10.19-4495.№ПВР-1-1.6/01631, от 10 июня 2019 г.).*

HORSE SALMONELLA ABORTION VACCINE DEVELOPMENT RESULTS

Neustroev M.P., Petrova S.G.

*Yakut Scientific Research Institute of Agriculture named after Safronov M.G.,
677001, Yakutsk, ul. Bestuzheva-Marlinskovo, 23/1
E-mail: mneyc@mail.ru*

*In order to specifically prevent salmonella abortion in horses, an inactivated vaccine from *Sal. abortus equi* BN-12 strain has been developed. with a fugate of strain *Bac. Subtilis* TNP-3 as an immunomodulator. Preclinical trials were performed on white mice and clinical trials – on horses. The absence of toxicity in white mice and mares was established. Immunogenicity on laboratory white mice was 90%, and on mares 100%. In the controlled experience after immunization, the business output increases by 13.8%. Production tests confirmed the results of laboratory and scientific experiments. Economic efficiency per 1 ruble of expenses amounted to 14.1 ruble or is 1.8 times higher compared to the vaccine with polyribonate. According to the results of preclinical trials on white mice and production tests, it was found that the introduction of an inactivated vaccine against salmonella abortion with a strain of bacteria *Bac. subtilis* TNP-3 is an effective method of preventing infectious abortion. Based on the research, scientific and technical documentation was developed and submitted for consideration to the Rosselkhoz nadzor. At present, the Instructions for the use of the vaccine have been approved and a Registration Certificate (71-1-10.19-4495.№PVR-1-1.6/01631, dated June 10, 2019) has been issued.*

Ключевые слова: сальмонеллезный аборт, вакцина, токсичность, иммуногенность

Key words: salmonella abortion, vaccine, toxicity, immunogenicity

Сальмонеллезный аборт лошадей преимущественно распространен в азиатских и африканских странах, единично выявляется в странах Европы, США и Аргентине [1-4]. Высокую смертность жеребят от кишечной инфекции, вызванной *Sal. abortus equi*, отмечали в Италии [5]. Особой тяжестью отличаются вирусно-бактериальные аборты, вызванные вирусом ринопневмонии и возбудителем сальмонеллезного аборта кобыл [6]. Смешанные инфекции особенно тяжело протекают у молодняка лошадей, при которых летальность может достигать до 22% [7]. Доказано носительство возбудителя сальмонеллеза здоровыми животными [8-9].

Наиболее эффективным методом профилактики сальмонеллеза лошадей является иммунизация вакцинами. Б.А. Матвиенко с соавторами [10] разработана сухая живая вакцина из штамма ТРЕ-841 АЗВИ, которая эффективно применялась в условиях Казахстана. Предложена комплексная иммунизация ринопневмонии и сальмонеллезного аборта живыми вакцинами [11-13]. В настоящее время в Казахстане ТОО «КазНИВИ» производит вакцину против сальмонеллезного аборта кобыл из аттенуированного штамма В-0147 *Sal. abortus equi* 841 [14].

В табунном коневодстве России применяется инактивированная вакцина против сальмонеллезного аборта лошадей, разработанная Якутским НИИСХ совместно с отделом вирусологии ВИЭВ [15]. Однако ее высокая цена, обусловленная иммуномодулятором полирибонат, сдерживает широкое использование вакцины. Более того, истек срок регистрации полирибоната. Необходимость разработки средств специфической профилактики сальмонеллезного аборта лошадей возрастает в период распространения новых вирусных болезней, в том числе COVID-19. Появилось сообщение о распространении коронавирусной болезни среди лошадей в штате Колорадо (США) с клиническими признаками, сходными с сальмонеллезным абортom [16].

Целью исследований была разработка и испытания экологически безвредного и эффективного вакцинного препарата для специфической профилактики сальмонеллезного аборта лошадей.

Методика. Работа проведена в лаборатории ветеринарной биотехнологии ЯНИИСХ, ООО НПЦ Хоту-Бакт и коневодческих хозяйствах Республики Саха (Якутия).

Для приготовления вакцины против сальмонеллезного аборта лошадей использовали штамм бактерий

Sal. abortus equi БН-12, который депонирован во Всероссийском государственном научно-исследовательском институте контроля, стандартизации и сертификации ветеринарных препаратов. В составе вакцины применяли культуральную жидкость (КЖ или фугат) штамма бактерий *Bac. subtilis* ТНП-3, депонированного в ВГНКИ ветеринарных препаратов (06.02.2001 г.).

Изучение токсичности вакцины при однократном внутрижелудочном введении белым беспородным мышам проведены согласно «Санитарным правилам СП 3.3.2.561-96» (утв. Постановлением Госсанэпиднадзора РФ от 31.10.96 г., №33). Для опыта были сформированы по принципу аналогов три группы мышей массой 11-18 г. Животным 1 группы вводили культуральную жидкость из штамма бактерий *Bacillus subtilis* ТНП-3; 2 группы – вакцину; 3 группы (контрольной) – дистиллированную воду. Препараты вводили в дозе 1 мл внутрижелудочно, утром натощак. В течение последующих 7 дней вели клиническое наблюдение, после чего животных умертвили спирт-эфиром для патологоанатомических исследований. Патоморфологические исследования проведены по общепринятым методикам.

Для изучения токсичности кобылам (по 4 головы) вводили вакцину внутримышечно в область шеи в дозе 2, 3 и 6 мл. Затем за животными вели клиническое наблюдение в течение 1 месяца.

В целях изучения напряженности иммунитета сформировали три группы белых мышей по 20 голов в каждой. 1 группу иммунизировали инактивированной вакциной с культуральной жидкостью бактерий *Bac. subtilis* в дозе 0,2 мл; 2 группу – инактивированной вакциной с иммуномодулятором полирибонат в дозе 0,2 мл подкожно в область спины. Животным 3 (контрольной) группы препараты не вводили. Через 14 дней после иммунизации мышей заражали подкожно в область спины суточной культурой патогенного штамма *Sal. abortus equi* в дозе 5 LD₅₀. За белыми мышами вели наблюдения в течение 10 дней.

Для изучения напряженности иммунитета вакцины в ноябре-декабре 2015 г. были сформированы три группы кобыл по 20 голов в каждой коневодческого звена ОПХ «Покровское». Животных 1 группы обработали инактивированной вакциной с *Bac. Subtilis*; 2 группы – вакциной с полирибонатом; 3 (контрольной) группы – не иммунизировали. Препараты вводили в дозе 2 мл внутримышечно в область верхней трети шеи. Через 30 дней после иммунизации из всех групп отобраны по 3 головы жеребых кобыл, которых заражали минимальной инфицирующей дозой патогенной культуры *Sal. abortus equi*. За животными вели клиническое наблюдение.

В целях испытания инактивированной вакцины в ноябре 2016 г. подобрано 219 голов кобыл 4-5-месячной жеребости в двух звеньях ОПХ «Покровское». Кобыл перед опытом дегельментизировали препаратом ивомек. Животных разделили на три группы. Кобылам 1 группы вводили инактивированную вакцину с полирибонатом; 2 группы – вакцину со штаммом бактерий *Bac. Subtilis* ТНП-3; 3 (контрольной) группы – вакцину не вводили.

Производственные испытания препарата осуществляли в ранее неблагополучных по сальмонеллезному аборту лошадей хозяйствах Якутии. Испытания вакцины и оформление научно-технической документации проводили согласно Федеральному закону от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» и приказу Минсельхоза РФ от 22 августа 2017 г., № 430. Цифровые материалы обработаны биометрически.

Результаты и обсуждение. За время опыта общее состояние подопытных белых мышей было удовлетворительным, двигательная активность и реакция на внешние раздражители сохранились, аппетит не нару-

шился, шерстный покров оставался гладким, консистенция кала не изменялась. К концу опыта прирост массы тела мышей 1 группы составил 2,01 г, 2 группы – 2,6 г, 3 группы – 1,4 г.

При патологоанатомическом исследовании трупов белых мышей опытных и контрольной групп патологических изменений органов и тканей не выявлено, структура органов не нарушена. По результатам гистологического исследования установлены острый венозный застой в паренхиматозных органах и отек легких. Картина изменений характерна для посмертного изменения при асфиксии. Изменения в слизистой оболочке желудка у опытных мышей характерны для гастрита, возникшего в ответ на введение препаратов. Гистоструктура паренхиматозных органов не изменена.

Результаты наблюдения иммунизированных кобыл показали, что на месте введения препарата иногда отмечалась припухлость тестоватой консистенции, которая проходила в течение 2-4 суток. За весь период наблюдений не выявлено отказа от корма, признаков угнетенности.

После заражения вирулентной культурой в 1 группе иммунизированных белых мышей погибло 2 головы, во 2 – 4, в 3 (контрольной) – 18.

У вакцинированных кобыл 1 и 2 групп после заражения аборт не наблюдался. Невакцинированные кобылы 3 группы после заражения абортывали. От абортированных плодов выделен патогенный возбудитель *Sal. abortus equi*.

Результаты биохимических исследований крови кобыл показали, что на 30 и 90 дни после иммунизации содержание общего белка и его фракций существенно не изменилось. При этом отмечено некоторое повышение альфа-глобулиновой и снижение гамма-глобулиновой фракции белка у кобыл 1 опытной группы. У животных 1 и 2 групп на 150 день после вакцинации регистрировано повышение содержания общего белка, альбуминовой и гамма-глобулиновой фракций. Этот период совпадает с максимальным синтезом агглютинирующих антител.

Результаты производственных испытаний в хозяйстве «Немюгюнцы» показали, что введение инактивированной вакцины против сальмонеллезного аборта со штаммом бактерий *Bac. subtilis* ТНП-3 является эффективным методом профилактики инфекционных абортов, поскольку ведет к увеличению делового выхода жеребят на 13,8% (табл.). У животных 1 группы зафиксировано 19 абортов, однако их сальмонеллезная этиология не установлена. В контрольной группе из 11 абортов в 3 пробах выделен возбудитель сальмонеллезного аборта лошадей. Производственные испытания были продолжены в хозяйствах Таттинского, Мегино-Кангаласского улусов и пригороде г. Якутска, где иммунизировано 1169 голов жеребых кобыл. Деловой выход молодняка составил 58,0, 70,9 и 48,4%, что существенно выше показателей предыдущих лет, колебавшихся на уровне 34,0-44,0%.

По результатам клинических наблюдений, патологоанатомического вскрытия и гистологических исследований культуральная жидкость из штамма бактерий *Bacillus subtilis* ТНП-3 и вакцина против сальмонеллезного аборта с фугатом не влияют отрицательно на общее состояние животных, не обладают аллергизирующими свойствами, не вызывают патологических изменений в органах и тканях, не оказывают токсического действия на организм лабораторных и целевых животных.

По результатам доклинических испытаний на белых мышах и производственных испытаний на лошадях установлено, что введение инактивированной

Результаты производственных испытаний инактивированной вакцины с штаммом *Bac. subtilis* против сальмонеллезного аборта лошадей

Хозяйство, группа	Вид вакцины	Кол-во гол.	Получено приплода, гол.	Зафиксировано абортов	Аборты сальмонеллезной этиологии	Деловой выход жеребят, %
«Немюгюнды», 1 группа	Вакцина + полирибонат	101	75	19	–	74,2
«Немюгюнды», 2 группа	Вакцина + <i>Bac. subtilis</i>	53	44	–	–	83,0
«Немюгюнды», 3 группа	–	65	45	11	3	69,2
Таттинский улус	Вакцина +	370	186	–	–	50,2
В т ч:						
КХ «Таатта»	<i>Bac. subtilis</i>	234	101	–	–	43,2
КХ «Кордугэн»		36	27	–	–	75,0
КХ «Победа»		100	58	–	–	58,0
Пригород г. Якутска	Вакцина + <i>Bac. subtilis</i>	124	88	–	–	70,9
Мегино-Кангаласский улус	Вакцина + <i>Bac. subtilis</i>	675	327	–	–	48,4

вакцины против сальмонеллезного аборта со штаммом бактерий *Bac. subtilis* ТНП-3 является эффективным методом профилактики инфекционных абортов.

При введении вакцины с полирибонатом экономический эффект на 1 руб. затрат составляет 7,8 руб. При внедрении способа иммунизации вакциной с фугатом *Bac. subtilis* ТНП-3 эффект на 1 руб. затрат возрастает в 1,8 раза и составляет 14,1 руб.

Следует отметить, что в предыдущих исследованиях нами установлена нецелесообразность использования живых вакцин при сальмонеллезном аборте и ринопневмонии из-за экстремальных климатических условий содержания табунных лошадей в Якутии. Разработанная нами вакцина не уступает по эпизоотической эффективности живым вакцинам, предложенным в Казахстане [14]. Таким образом, разработанный нами метод специфической профилактики сальмонеллезного аборта лошадей инактивированной вакциной с культуральной жидкостью из штамма *Bac. subtilis* ТНП-3 является экономически эффективным и его следует рекомендовать для широкого внедрения в табунном коневодстве.

Высокую эффективность инактивированной вакцины, по нашему мнению, можно объяснить антигенной активностью вакцинного штамма и иммуномодулирующим компонентом – культуральной жидкостью (фугатом) штамма бактерий *Bacillus subtilis* ТНП-3. Возможность применения пробиотиков и других биологически активных веществ в качестве иммуномодуляторов отмечена при иммунизации животных против бруцеллеза [17], сальмонеллеза коров [18], сальмонеллеза песцов [19]. Нами доказана возможность использования фугата штамма бактерий *Bac. subtilis* в качестве иммуномодулятора при разработке инактивированной вакцины против ринопневмонии лошадей. Штамм бактерий *Bacillus subtilis* ТНП-3 может индуцировать синтез интерферона и стимулировать иммунобиологическую реактивность организма, усиливать иммуногенность инактивированных бактериальных и вирусных вакцин [16, 20].

По результатам исследований разработана научно-техническая документация и представлена для рассмотрения в Россельхознадзор. В настоящее время утверждена Инструкция по применению вакцины и выдано Регистрационное удостоверение (71-1-10.19-4495№ПВР-1-1.6/01631, от 10 июня 2019 г.).

Литература

1. Bustos C.P., Gallardo J., Retamar G., Lanza N.S., Falzoni E., Caffer M.I., Picos J., Munoz A.J., Perez A., Moras E.V., Mesplet M., Guida N. *Salmonella enterica serovar Abortusequi asan emergent pathogen causing equine abortion in Argentine // J. Equine Vet. Sci. – 2016. – № 39. – S.58-59.*
2. Llorente L.A., Ivanissevich A., Camina S., Marco L., Vissani A., Olguin C., Herrera M., Barrandeguy M. *Occurrence of multiple abortions due to Salmonella enterica serovar Abortusequi infection // J. Equine Vet. Sci. – 2016. – №39. – S.58.*
3. Marenzoni M.L. *Causes of equine abortion, stillbirth and neonatal death in central Italy // Vet. Rec. – 2012. – 170. – P. 262.*
4. Rodriguez A. *Prevalence of Salmonella in diverse environmental farm samples // J. Food Prot. – 2006. – № 69. – P. 2576–2580.*
5. Grandolfo E., Parisi A., Ricci A., Lorusso E., Rocco de Siena, Trotta A., Buonavoglia D., Martella V., Corrente M. *High mortality in foals associated with Salmonella enterica subsp. Enterica Abortusequi infection in Italy // Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. – 2018. – Vol. 30(3). – P. 483–485.*
6. Юров К.П. *Инфекционные болезни лошадей. – М.: Росагропромиздат, 2000. – С. 126-130.*
7. Неустроев М.П., Петрова С.Г. *Особенности эпизоотологии сальмонеллезного аборта лошадей в Якутии // Сельскохозяйственные науки и агропродовольственный комплекс на рубеже веков: Сборник материалов XX международной научно-практической конференции. – Новосибирск, 2017. – С.93-97.*
8. Литвинова З.А. *Патологоанатомическое проявление и лечение тромбгеморрагического синдрома при сальмонеллезе у телят // Дальневосточный аграрный вестник. – 2016. – № 2 (38). – С. 56-62.*
9. Swerczek T.W. *Identifying the bacterial causes of abortion in mares // Vet. Med. – 1991. – № 86. – P. 1210-1216.*
10. Матвиенко Б.А., Всеволодов Б.П., Куляшбекова Р.К. *Характеристика живой сухой вакцины против паратифозного аборта кобыл из штамма Е-841 // Вестник сельскохозяйственной науки. – 1973. – № 4. – С. 107-110.*

11. Ахметсадыков Н.Н. Комплексная иммунопрофилактика ринопневмонии и сальмонеллезного аборта кобыл живыми вакцинами: Автореф. дис. ... канд. вет. наук. – Алма-Ата, 1988. – 22 с.
12. Ахметсадыков Н.Н., Бияшев К.Б. Биологические и иммуногенные свойства вакцинных штаммов против сальмонеллезного аборта и ринопневмонии лошадей // Диагностика, лечение и профилактика инфекционных болезней животных Казахстана. – Алма-Ата, 1989. – С. 94-99.
13. Юров К.П. Инфекционные болезни лошадей. – М.: Росагропромиздат, 1991. – С. 114-118.
14. Мусаева А.К., Егорова Н.Н. Специфическая профилактика сальмонеллезного аборта кобыл в Казахстане // Аграрная наука – сельскохозяйственному производству Сибири, Казахстана, Монголии, Белоруссии и Болгарии: Материалы XXI Международной научно-практической конференции (Новосибирск 16-17 ноября 2017 г.). – Новосибирск, 2018. – С. 197-198.
15. Неустроев М.П., Тарабукина Н.П., Петрова С.Г. Способ повышения эффективности вакцинации против инфекционных аборт в табунном коневодстве // Российская сельскохозяйственная наука. – 2019. – № 1. – С. 49-52.
16. Manship A.J., Bliklager A.T., Elfenbein J.R. Disease features of equine coronavirus and enteric salmonellosis are similar in horses // Journal of Veterinary Medicine. – 2019. – V. 33. 2. – P. 912-917.
17. Львова О.В., Ощепков В.Г., Попова Т.Г., Бронников В.С., Гуськова Т.В. Возможность применения пробиотиков при вакцинации животных различными противобруцеллезными вакцинами // Материалы шестой межрегиональной конференции, посвященной 85-летию СибНИВИ ВНИИТБЖ (г. Омск, 7-8 декабря 2007 г.). – Новосибирск, 2007. – Вып. 2. – С. 111-114.
18. Шахов А.Г., Масьянов Ю.Н., Бригадиров Ю.Н., Перишина С.И., Бирюкова М.В., Золотарев А.И., Кардашов А.М., Батищева Е.В. Применение иммуномодуляторов при вакцинации животных против сальмонеллеза // Ветеринария. – 2006. – № 6. – С. 21-26.
19. Соловьева А.С., Овсянников Ю.С., Домский И.А., Бельтюкова З.Н. Применение субалина при вакцинации щенков песца против сальмонеллеза // Ветеринарная медицина. – 2011. – № 3-4. – С. 124-126.
20. Осмаев И.А., Юров К.П., Неустроев М.П. Иммуномодулирующие свойства эндогенного интерферона у телят // Ветеринария. – 2007. – № 1. – С. 11-13.

Поступила в редакцию 23.03.20
После доработки 15.05.20
Принята к публикации 18.05.20