

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ»
(ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

На правах рукописи

БАЛАХНИН Никита Денисович

**ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВАКЦИН ПРОТИВ РОЖИ
СВИНЕЙ И РОЖИ И ПАРВОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ СВИНЕЙ**

4.2.3 «Инфекционные болезни и иммунология животных»

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук

Научный руководитель:
кандидат ветеринарных наук
Бирюченков Дмитрий Анатольевич

Владимир – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	10
1.1 Возбудитель рожи свиней.....	10
1.2 Возбудитель парвовирусной инфекции свиней.....	18
1.3 Специфическая профилактика рожи свиней и парвовирусной инфекции свиней.....	22
1.4 Общие принципы конструирования инаktivированных вакцин.....	23
1.5 Изготовление инаktivированных эмульсионных средств специфической профилактики.....	24
1.6 Контроль качества средств специфической профилактики.....	28
1.7 Заключение по обзору литературы.....	30
2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	32
2.1. Материалы	32
2.2. Методы.....	34
3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	45
3.1 Изучение биологических свойств изолятов рожи свиней и определение антигенного состава вакцин.....	45
3.2 Определение оптимального состава питательной среды для культивирования <i>E. Rhusiopathiae</i>	49
3.3 Подбор инаktivанта и определение основных параметров инаktivации.....	51
3.4 Изготовление лабораторного образца экспериментальной вакцины.....	56
3.5 Контроль экспериментальных образцов разрабатываемых вакцин	57
3.6 Определение иммунизирующей дозы.....	64
3.7 Определение серопротекции иммунизированных свиней к возбудителям рожи и ПВИС	73
3.8 Определение продолжительности иммунитета после применения вакцины на ремонтных свинках.....	77

3.9 Определение стабильности вакцины.....	81
3.10 Сравнительные испытания разработанных препаратов.....	85
4. ОБСУЖДЕНИЕ.....	89
5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	95
5.1 Выводы.....	95
5.2 Практические предложения.....	96
5.3 Перспективы дальнейшей разработки.....	97
6. СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	98
7. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	99
8. ПРИЛОЖЕНИЯ.....	113

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Промышленное свиноводство, как одна из стратегически важных отраслей агропромышленного комплекса Российской Федерации, находится в стадии интенсивного развития. Экономическая составляющая свиноводства во многом определяется эффективностью системы мероприятий по обеспечению здоровья животных и профилактике наиболее значимых инфекционных болезней [1, 18, 35, 40, 52, 53, 57].

Наряду с увеличением поголовья свиней, содержащихся в специализированных комплексах, направленных на выращивание, откорм и высокий уровень воспроизводства животных, наблюдается рост инфекционных заболеваний. Совместно с инфекциями бактериальной этиологии, такими как рожа свиней, поражающая поголовье в возрасте 3-12 месяцев, стоят вирусные агенты, снижающие репродуктивность животных, такие как парвовирусная инфекция свиней, которая, в свою очередь, приводит к гибели новорождённых поросят, снижению уровня приплода, мертворождению и мумификации плодов. На данный момент основным методом предупреждения как частных случаев, так и массовых вспышек инфекций является специфическая иммунопрофилактика [3, 5, 10, 82, 99, 100].

Эффективность вакцинопрофилактики напрямую зависит от качества выпускаемых биопрепаратов, которое определяется множеством факторов, таких как антигенные свойства штаммов микроорганизмов и вирусов, технология культивирования и инактивации возбудителей, а также условия производства и корректно подобранный состав препарата [18, 20, 65, 66, 118].

В настоящее время на территории Российской Федерации зарегистрировано более 10 средств специфической иммунопрофилактики отечественного производства, нацеленных на предупреждение рожи и парвовирусной инфекции свиней, а также более 10 препаратов зарубежного производства [16, 37].

Основной проблемой биопрепаратов, представленных на рынке, является использование узкого спектра штаммового разнообразия, так как практически все инаktivированные вакцины против рожи свиней, зарегистрированные на территории РФ используют в своем составе только один штамм «М-2», который недостаточно эффективен к спектру полевых патогенов, циркулирующих на территории страны. Главным недостатком живых вакцин против рожи свиней является возможность реверсibility, которая минимизируется при создании антигена для инаktivированных вакцин [37, 122, 124].

Анализируя литературные данные последних лет [37,124], выявлена тенденция к однообразности используемых компонентов и явная потребность рынка вакцин в создании нового препарата специфической профилактики против рожи свиней, а также против рожи и парвовирусной инфекции свиней инаktivированной эмульсионной.

Степень разработанности проблемы. Изучение рожи свиней в отечественной науке берет свое начало с XIX века, именно тогда был выделен штамм Конева для производства живой вакцины. Профилактика инфекции, вплоть до начала XXI века, состояла из использования живых препаратов, обладающих сниженными показателями безвредности и безопасности. Несмотря на глубокое изучение проблемы отечественными учеными в середине прошлого века, вклад иностранных авторов [Opriessnig T., Coutinho T.A., Wang Q, Chang B.J., Riley T.V.], получил более широкое распространение [1, 6, 7, 10, 69, 103, 104, 105, 106, 107, 119].

ПВИС - вирусное заболевание, возбудитель которого был выделен в 1966 г., в Германии, а в отечественной истории он появился лишь в 1982 г. Главной стратегией в профилактике инфекций остается иммунизация поголовья инаktivированными или живыми вакцинами. На данный момент в Российской Федерации зарегистрированы средства специфической профилактики, нацеленные на борьбу как с рожей свиней и ПВИС в моно-, так и в ассоциированном варианте, однако штаммовый спектр, используемый при создании вакцин, не обеспечивает

должной защиты, а адъюванты, лежащие в основе препаратов, устарели или обладают сниженными показателями безвредности, реактогенности и стимуляции иммуногенного ответа [3, 5, 16, 37, 101].

В связи с вышеизложенным, разработка и изучение иммунобиологических свойств вакцины против рожи свиней, а также против рожи и парвовирусной инфекции свиней, являются актуальной темой.

Цель и задачи исследований. Цель работы – разработка вакцин против рожи свиней, а также против рожи и парвовирусной инфекции свиней инактивированной эмульсионной и изучение их иммунобиологических свойств.

Для выполнения поставленных целей было необходимо решить следующие задачи:

- получить полевые изоляты бактерий - возбудителей рожи свиней, изучить их свойства и отобрать из них кандидатов в производственные штаммы;
- определить оптимальный состав питательной среды для культивирования штаммов *E. rhusiopathiae*;
- подобрать инактивант и определить параметры инаktivации для получения антигенов *E. rhusiopathiae*;
- подобрать масляный адъювант для изготовления лабораторных образцов экспериментальной инактивированной эмульсионной вакцины против рожи свиней и против рожи и ПВИС;
- определить безвредность и реактогенность лабораторных образцов вакцин;
- определить продолжительность иммунитета после применения разработанных препаратов;

Научная новизна результатов исследования. Получены изоляты, изучены их свойства и депонированы как производственные штаммы возбудителей рожи свиней: *E. rhusiopathiae* «БД-23», *E. rhusiopathiae* «М-2».

Определен оптимальный состав питательной среды для культивирования *E. rhusiopathiae*.

Определены параметры инаktivации для получения антигенов *E. rhusiopathiae*.

Определены оптимальные антигенные составы вакцин против рожи свиней инаktivированной эмульсионной ВНИИЗЖ «ЭризеВак» и против рожи и парвовирусной инфекции свиней инаktivированной эмульсионной ВНИИЗЖ «ЭриПВИС».

Изучены свойства адъюванта Montanide IMS – 1313 в составе эмульсионных моно- и ассоциированной вакцин.

Установлена связь между типом эмульсии используемого адъюванта и иммуногенным действием на организм лабораторных и восприимчивых животных.

Доказана зависимость между сероконверсией и протективным действием вакцины на восприимчивых животных, установлены сроки формирования и продолжительность поствакцинального напряженного иммунитета. Научная новизна исследований подтверждена получением патента РФ на изобретение.

Теоретическое и практическая значимость работы. Изучена продолжительность иммунитета у свиней различного возраста. Результаты научных изысканий легли в основу разработки новых вакцин, которые прошли все испытания, зарегистрированы и внедрены в ветеринарную практику в рамках программы НИР «Разработка комплексной системы контроля инфекционных болезней животных и совершенствование методов исследования остатков запрещённых веществ в организме животных, кормах и продуктах животного происхождения». Нормативные документы утверждены в установленном порядке. Справки о депонировании штаммов бактерий, СТО на два штамма рожи свиней и две инаktivированные эмульсионные вакцины, регистрационные удостоверения для ветеринарного применения разработанных вакцин указаны в разделе «Заключение. Практические предложения», копии титульных листов документов представлены в виде приложений.

Методология и методы исследований. В ходе выполнения диссертационной работы использованы микробиологические, морфологические,

биохимические, протеомические, молекулярно-генетические (полногеномное секвенирование), серологические и иммунологические методы исследований. Достоверность результатов исследований оценивали статистическими методами.

Положения, выносимые на защиту:

- результаты изучения биологических свойств штаммов возбудителя рожи свиней *E. rhusiopathiae* «БД-23», *E. rhusiopathiae* «М-2»;
- параметры режима инаktivации штаммов *E. rhusiopathiae* «БД-23», *E. rhusiopathiae* «М-2»;
- антигенный состав в моно- и ассоциированной вакцинах;
- результаты изучения аректогенности и безвредности адьюванта Montanide IMS – 1313 в составе вакцин против рожи и против рожи и парвовирусной инфекции свиней;
- иммунобиологические свойства вакцин против рожи, а также против рожи и парвовирусной инфекции свиней.

Личный вклад соискателя. Научные исследования, изложенные в диссертации, выполнены автором самостоятельно и являются результатом работы за период 2022 – 2025гг.

Автором лично проведён сбор, систематизация и анализ отечественной и зарубежной литературы по изучаемой теме; выполнено планирование и непосредственное проведение экспериментов. Автор принимал непосредственное участие в статистической обработке, анализе данных и полученных результатов. На основании полученных результатов автором подготовлены публикации, сделаны выводы и даны практические рекомендации. При выполнении отдельных этапов работы консультационную и методическую помощь оказывали сотрудники лаборатории профилактики болезней свиней, лаборатории профилактики бактериальных болезней, лаборатории молекулярно-генетических исследований и информационно аналитического центра.

Степень достоверности и апробация результатов. Степень достоверности полученных экспериментальных данных подтверждена обработкой их классическими методами статистического анализа и результатами комиссионных испытаний.

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены: на заседаниях ученого совета ФГБУ «ВНИИЗЖ» (2023 – 2025 гг.) в рамках выполнения программ НИР «Разработка комплексной системы контроля инфекционных болезней животных и совершенствование методов исследования остатков запрещенных и вредных веществ в организме животных, кормах и продуктах животного происхождения» («Ветеринарное благополучие»), на международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы диагностики, профилактики и лечения заболеваний крупного рогатого скота и свиней» (27 октября 2023 года, г. Минск, Республика Беларусь); на всероссийской научно-практической конференции молодых ученых, посвященной Дню российской науки «Актуальные исследования молодых ученых - результаты и перспективы» (08 февраля 2024 года в г. Благовещенск).

Публикация научных исследований. По материалам диссертации опубликовано пять научных статей, из которых одна статья опубликована в журнале, входящем в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук и патент на изобретение РФ № 2860278.

Объём и структура диссертации. Диссертация изложена на 127 страницах печатного текста и содержит следующие разделы: обзор литературы, собственные исследования, результаты исследований, обсуждение, заключение и список сокращений. Список литературы включает 124 источника, в том числе 55 работ зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 25 рисунками и 16 таблицами. В приложении представлены копии титульных листов документов, подтверждающих результаты отдельных этапов работы, их научную новизну и практическую значимость.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Возбудитель рожи свиней

Промышленное свиноводство как одна из стратегически важных отраслей агропромышленного комплекса Российской Федерации находится в стадии интенсивного развития. Экономическая составляющая свиноводства во многом определяется эффективностью системы мероприятий по обеспечению здоровья животных и профилактике наиболее значимых инфекционных болезней [1, 18, 35, 40, 52, 53, 57].

Наряду с увеличением поголовья свиней, содержащихся в специализированных комплексах, направленных на выращивание, откорм и высокий уровень воспроизводства животных, наблюдается рост инфекционных заболеваний, одним из которых является рожа свиней - септическое инфекционное заболевание, характеризующееся геморрагическим гастроэнтеритом, нейритом, кровоизлияниями на серозных и слизистых оболочках, увеличением селезенки, поражающее животных в возрасте 3 - 12 мес. Заражение животных происходит алиментарным, аэрогенным или контактным путем, а также при укусах кровососущих насекомых [10, 82, 94, 99, 100].

Первое упоминание о заболевании датировано 1862 г. Ф. А. Брауэлем, Ф. Ю. Розенбах же, в свою очередь сделал первую прививку против рожи свиней. В 1878 г. Р. Кох впервые обнаружил у мышей возбудителя септицемии – *Erysipelothrix muriseptica*, который в дальнейшем оказался схожим с возбудителем рожи свиней по культуральным, морфологическим, серологическим свойствам. В 1881 г. Ф. Леффлер описал бактерию. В 1882 г. Л. Пастер и Л. Тюилье выделили бациллу из трупа свиньи и приготовили прививной материал, впоследствии в 1883 г. Л. Пастером была разработана первая живая вакцина. В 1884 г. Ф. Ю. Розенбах установил болезнь у людей, которая впоследствии была названа эризипелоидом Розенбаха. Лоренц и Лекланш в 1885 г. разработали

противорожистую сыворотку. Д. Ф. Конев в 1889 г. получил вакцинный штамм для производства живых вакцин [1, 6, 7, 10, 69, 105, 119].

Рожа – это септическое инфекционное заболевание, характеризующееся геморрагическим гастроэнтеритом, нейритом, кровоизлияниями на серозных и слизистых оболочках, увеличением селезенки, поражающее животных в возрасте 3 - 12 мес. Течение болезни может быть острым и хроническим, последнее характеризуется эпизоотическими вспышками с большим экономическим ущербом. Возбудитель инфекции - бактерия *Erysipelothrix rhusiopathiae* [21, 22, 24].

Согласно современной таксономической классификации микроорганизм относится к царству *Bacteria*, отделу *Firmicutes*, классу *Erysipelotrichia*, порядку *Erysipelotrichales*, семейству *Erysipelotrichaceae*, роду *Erysipelothrix*. [89].

Представители рода *Erysipelothrix* широко распространены в природе, обычно как паразиты млекопитающих, птиц и рыб [26, 34, 37, 111, 113].

Вопреки изначальному мнению ученых о том, что антигенная структура штаммов возбудителя рожи свиней одинаковая, было выявлено три типа штаммов – А, В и N, включающих 15 сероваров [21, 22, 24, 25, 26, 34].

Видовая серологическая идентификация возбудителя проводится с использованием реакции агглютинации, которую ставят с диагностическими гипериммунными сыворотками [7, 54, 70, 102, 122, 123].

Первым типовым видом является *Erysipelothrix rhusiopathiae*, который подразделяется на 3 серотипа: «А», наносящий главный экономический ущерб в связи с высоким уровнем вирулентности; «В» - серовар, характеризующийся умеренной вирулентностью и хорошими иммуногенными свойствами; и «N», который характеризуется как условно патогенная микрофлора и встречается в организме клинически здоровых животных, и 2 серовара - «1а» и «2». Анализ литературных источников показывает, что острая форма (рожистая септицемия) заболевания вызывается полевыми изолятами серотипа 1а. Подострое и хроническое течение инфекции обусловлены изолятами серотипа 2. Вторым типовым видом данного рода является *Erysipelothrix tonsillarum*. Штаммы

Erysipelothrix tonsillarum принадлежат к семи серотипам – 3, 7, 10, 14, 20, 22, 23 и маловирулентны для свиней. Бактерии данного вида выделяют из миндалин и туш здоровых свиней [20, 71, 72, 75, 76, 80, 113].

Попав в организм животного, возбудитель локализуется в миндалинах, солитарных фолликулах кишечника и повреждениях кожи, размножаясь и вызывая нарастающую сенсибилизацию организма (аллергизацию). При подостром и хроническом течении болезнь редко проявляется аллергическими реакциями (гиперемией и местным воспалением кожи в виде рожистых пятен, а также артритам); чаще всего такая форма ведет к развитию выраженного веррукозного эндокардита [20, 124].

Бактерии *Erysipelothrix rhusiopathiae* представляют собой мелкие, неподвижные, прямые или слегка изогнутые палочки размером $0,2 - 0,3 \times 0,5 - 1,5$ мкм. Грамположительные, неподвижные, спор и капсул не образуют. В случае воздействия на бактерии неблагоприятных условий внешней среды они могут образовывать нити и другие инволюционные формы [20, 21, 37, 110, 116, 121].

E. rhusiopathiae – факультативный анаэроб; некоторые штаммы лучше растут в атмосфере с пониженным давлением кислорода, содержащей 5 - 10% диоксида углерода. Палочка рожи способна расти в достаточно широком температурном диапазоне от 5 до 42 °С. Однако оптимальной для культивирования бактерий считается температура 35 °С, и pH 6,9 - 7,0 [6, 75, 99, 110].

Микроорганизм обладает сравнительно высокой устойчивостью во внешней среде. В гниющих трупах и органах свиней, зарытых в землю, сохраняется 10 – 12 мес., в навозной жиже – до 290 дней, в фекалиях – 38 – 78 дней. Засолка и копчение не обезвреживают мясо свинины от бактерий; при засолке они сохраняются 6 мес., в копченых продуктах – до 3 мес. Прямые солнечные лучи убивают бактерии через 10 – 12 дней, высушивание при рассеянном свете – через 3 – 4 недели. Бактерии рожи неустойчивы к действию высокой температуры и дезинфицирующим средствам. Для дезинфекции применяют 2 – 3 % раствор едкого натра, 20 % взвесь свежегашеной извести, 10 % раствор хлорной извести [107, 122].

Эпизоотологические данные свидетельствуют о широком распространении болезни по всему миру: она зарегистрирована в Австралии, Аргентине, Индии, Индонезии, Канаде, Кении, Китае, Корее, Новой Зеландии, США, Турции, Уругвае, Чили, ЮАР, Японии и в других странах ближнего и дальнего зарубежья, а также во многих европейских государствах, в том числе в РФ [54, 69, 70].

Рожа относится к природно-очаговым болезням, что связано с высокой устойчивостью возбудителя во внешней среде и его циркуляцией в природе, обеспечивающими постоянство резервуара инфекции. При латентном течении бактерии локализуются в миндалинах и кишечных фолликулах; клиническое проявление болезни может быть вызвано стресс-факторами, особенно влиянием высокой температуры, недостатком в рационе минеральных веществ и витаминов, а также избытком белка. В результате эпизоотические вспышки рожи в хозяйствах чаще возникают эндогенно, без заноса возбудителя извне. По данным зарубежных исследователей, от 30 до 50 процентов свиней являются носителями латентной формы болезни [95, 116, 122].

Рож свиней классифицируется на сверхострую, острую (рожистая септицемия), подострую или кожную (крапивница), кожно-суставную и хроническую формы. Последняя является следствием двух предыдущих [102, 105].

Сверхострое течение наблюдается сравнительно редко и характеризуется внезапной смертью. При этом клинические признаки не успевают развиваться, болезнь заканчивается летальным исходом в течение 3 - 4 часов. Данную форму заболевания называют белой рожей [34, 37, 82].

При рожистой септицемии температура тела животного повышается до 42 °С, животное угнетено, зарывается в подстилку, дрожит; на более нежных участках кожи видны красные с синеватым оттенком пятна, бледнеющие при надавливании. Отмечаются слабость тазовых конечностей, сниженная активность, конъюнктивит, гиперсаливация; при крапивнице, помимо указанных признаков, – высыпание красных пятен прямоугольной или неправильной формы на всей поверхности

кожного покрова. При остром течении болезни у супоросных свиноматок могут возникать аборт, у кормящих свиноматок – агалактия [9, 80, 103].

При подостром течении симптомы проявляются в виде крапивницы: на спине и боках появляются многочисленные эритематозные ограниченные припухлости различной величины. В случае доброкачественного течения на месте пятен могут возникать некрозы кожи с последующим ее отслаиванием. В дальнейшем животные либо выздоравливают, либо заболевание приобретает хронический характер [105, 121].

Хроническая форма болезни, которую, по мнению отечественных и зарубежных исследователей, обуславливает серовар 2, наиболее распространена в РФ в настоящее время и характеризуется либо развитием разлитого рожистого некроза с гнойным отторжением омертвевших участков кожи, либо развитием веррукозного (бородавчатого) эндокардита с резким нарушением сердечной деятельности (тахикардия), либо поражением суставов конечностей (деформация, болезненность, хромота). Летальность при данной форме низкая, и остается актуальной высокая вероятность контаминации окружающей среды и перезаражения [7, 34, 119].

Характерные поражения кожного покрова свиней при манифестной форме заболевания: пятна розовые, красные или фиолетовые, несколько возвышаются над поверхностью кожи, имеют ромбовидную, прямоугольную или квадратную форму. При гистологическом исследовании кожи и подкожной клетчатки регистрируют проявления гнойного васкулита, гидраденита и фолликулита, а также дегенерацию и некроз стенки сосуда, тромбоз и мультифокальные участки некроза. Гнойный васкулит и повреждение стенки кровеносного сосуда наблюдались во всех случаях с различной степенью тяжести, формируя в дальнейшем очаг некроза [37, 90, 122].

При патологоанатомическом вскрытии павших свиней обнаруживают венозный застой во внутренних органах; серозные покровы грудной и брюшной полостей покрыты нитями фибрина, что характерно для септицемии [34, 54, 109].

Заболевание чаще всего имеет спорадический характер, затрагивает отдельных животных или небольшие группы, реже проявляется в форме энзоотий. Сезонность вспышек болезни зависит от метода ведения свиноводства: в промышленных комплексах из-за искусственного поддержания микроклимата вспышки могут возникать всесезонно, а при традиционном методе заболевание возникает преимущественно в весенне-летне-осенний период [116, 119].

К роже восприимчивы животные в возрасте от 3 месяцев до года, а значит, поголовье, в которое уже вложены значительные финансовые и трудовые ресурсы. Заболевание преимущественно проявляется среди ремонтного и откормочного молодняка, реже - у новорожденных поросят, что объясняется поступлением антител с молозивом от иммунных свиноматок. Свиньи старшего возраста поражаются редко; это связано с приобретением естественного или искусственного иммунитета [95, 106, 123].

Экономический ущерб складывается из падежа и вынужденного убоя животных, недополучения приплода, продукции и снижения ее качества, а также затрат, связанных с проведением мероприятий по профилактике и ликвидации болезни, и сопоставим со вспышкой первичного бактериального агента, что включает затраты на лечение антимикробными препаратами широкого спектра действия, потери от выбраковки и падежа, а также осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы. Применение антибиотиков не способно нивелировать и искоренить циркуляцию патогена в поголовье, а лишь устраняет последствия существующих осложнений и способствует формированию антибиотикорезистентных форм возбудителя рожи. Переболевшие свиньи длительное время остаются бактерионосителями и служат источником возбудителя инфекции для здоровых животных [111, 124].

Заболевание представляет потенциальную опасность для человека. Источники заражения человека эризипелоидом весьма разнообразны: зафиксированы случаи заражения от кроликов, аквариумных рыб, при контакте со зверями в зоопарке, черепахами, медузами, акулами, устрицами и на сыроварнях [124].

Основным источником болезни являются домашние и дикие млекопитающие, в том числе больные рожей свиньи, свиньи-бактерионосители, грызуны, а также птицы, рыбы, рептилии и люди, у последних заболевание известно как *erysipeloid* [7, 10, 122].

Факторами передачи возбудителя служат мясные продукты и субпродукты, полученные от больных рожей свиней, а также корма, вода, почва, навоз, предметы ухода, контаминированные бактериями рожи. В пределах свинокомплекса и близлежащего населенного пункта механическими переносчиками бактерий могут быть домашние мухи и осенние мухи-жигалки, питающиеся кровью больных рожей животных [103, 104, 105, 124].

Экспериментальное заражение целевых животных, в данном случае свиней, произвести в лабораторных условиях крайне проблематично; достигается это только путем втирания суточной бульонной культуры *E. rhusiopathiae* в места с нарушением целостности верхнего слоя эпидермиса животного или при интердермальной инъекции в дозе 0,2 мл в три точки, которые могут располагаться продольно между складками передней и задней конечности [34, 75].

Смертность непредсказуема и может быть, как нулевой, так и 100%-й и происходит, как правило, на 5-6-й день от начала проявления клинических симптомов [103, 121].

Профилактика и ликвидация патогенной для человека рожи свиней имеют очень важное эпидемиологическое значение [113].

Диагностика рожи свиней основана на оценке эпизоотологических данных, анализе клинической картины болезни, патологоанатомических изменениях и результатах лабораторных исследований. С этой целью в лабораторию направляют трубчатую кость, селезенку, печень, почку; при подозрении на латентное, хроническое или ассоциированное течение обязательно отправляют сердце от 2 - 3 трупов свиней. При массовых артритах дополнительно можно проводить отбор синовиальной жидкости из полости пораженных суставов [106, 107, 108].

При необходимости патологический материал консервируют 30%-ным стерильным водным раствором глицерина или подвергают однократному замораживанию [76, 95, 99, 104].

При оценке клинической картины заболевания необходимо учитывать, что для острого течения рожи характерны общие неспецифические симптомы, которые затрудняют ее диагностику. Напротив, появление пятен на кожном покрове, хромоты и лихорадки у свиней способствует постановке диагноза практическими специалистами [37, 110].

В лаборатории рожу свиней диагностируют бактериологическим методом, включающим микроскопию мазков-отпечатков, окрашенных по Граму, выделение чистой культуры, заражение лабораторных животных, дифференциацию изолятов от микробов других видов. [108, 116, 120]

Ряд исследователей рекомендует, кроме бактериологического метода, проводить дополнительные исследования: иммуногистохимию (ИГХ), полимеразную цепную реакцию (ПЦР) и обнаружение антител в сыворотках крови свиней с помощью серологических реакций [6, 10, 94, 106, 107, 122].

При постановке диагноза необходимо дифференцировать рожу от классической чумы и геморрагической септицемии. Так, при классической чуме свиней наблюдают «чумные бутоны» в толстом отделе кишечника и геморрагические инфаркты на поверхности селезенки. В случае заболевания животных рожей свиней на первый план выступает венозная гиперемия кожи и внутренних органов; другие изменения, такие как воспалительные процессы или кровоизлияния, появляются только на фоне гиперемии органов. При геморрагической септицемии регистрируют симптомокомплекс, который не регистрируют при роже, а именно: геморрагические воспаления слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, геморрагическая инфильтрация в мышечной ткани и интерстиции, а также пневмонию [79, 103, 104, 109, 110].

При постановке биологической пробы белых мышей и гоубей заражают суспензией из органов и тканей, приготовленной на физиологическом растворе в соотношении 1:10. Мышей заражают подкожно, голубей – внутримышечно.

Животных, павших на 2 - 4 сутки, вскрывают и проводят бактериологическое исследование органов с целью выявить чистую культуру возбудителя инфекции [1, 78, 81, 83, 89, 92].

1.2. Возбудитель парвовирусной инфекции свиней

Парвовирусная инфекция свиней – контагиозная болезнь вирусной этиологии; клинические проявления регистрируются у супоросных свиноматок, а у хряков болезнь протекает в латентной форме, при этом они являются вирусоносителями. Характерными признаками болезни считаются прохолосты, абортирование и рождение мумифицированных плодов; приплоды при заболевании ПВИС немногочисленны. Клиническая картина болезни складывается из снижения уровня лейкоцитов (лейкопении), реже - повышения температуры тела; субклиническое течение стимулирует распространение болезни с выделением биологических отходов жизнедеятельности. Симптомы проявляются в период начала супоросности свиноматок и длятся до 10 дней. У новорожденных поросят в редких случаях отмечаются неспецифические симптомы различной этиологии. Парвовирусная инфекция свиней распространена более чем в 30 странах по всему миру, в том числе в Российской Федерации [3,5,101].

Вирус был выделен в 1966 году Майром из плода абортировавшей свиньи, в 1967 году была установлена связь между болезнью и репродуктивной функцией свиноматок. Первое упоминание в отечественной литературе датировано 1982 годом, когда при проведении диагностических мероприятий вирус выделили из мумифицированных плодов [23,33,28].

Возбудителем парвовирусной инфекции свиней является безоболочечный ДНК-содержащий вирус. Согласно современной таксономической классификации возбудитель относится к семейству *Parvoviridae*, включающему два подсемейства: *Parvovirinae*, которое включает три рода с PPV: *Protoparvovirus* (PPV1 и PPV8), *Tetraparvovirus* (PPV2 и PPV3) и *Copiparvovirus* (PPV4 и PPV6). Подсемейство *Hamaparvovirinae* включает род *Chaphamaparvovirus*, в

который входит PPV7 (1 и 2). PPV5 в настоящее время не классифицирован Международным комитетом по таксономии вирусов (ICTV) [3, 5, 13, 14].

Пути передачи вируса могут быть как аэрогенными, так и половыми и оральными. Источником возбудителя являются больные или переболевшие животные, поставленные из неблагополучных хозяйств, инфицированные средства ухода, а также немаловажную роль в распространении вируса играют крысы. Источником инфекции могут служить слизистые выделения из ротовой полости и носа, сперма, секрет половых органов, плацента, мертворожденные и мумифицированные плоды, моча и кал. В помещениях по содержанию животных вирус может сохраняться до 140 суток, в связи с этим контаминированные помещения считаются основным источником вируса [14,38,51,59,101].

Патогенез складывается из воздействия вируса на эмбрионы; при инфицировании до 70-х суток супоросности закономерен летальный исход плодов в результате проникновения и накопления вируса как в плацентарной оболочке, так и в организме в целом. Локализация вируса подтверждает, что летальный исход не является результатом поражения предполагаемого органа-мишени [101,117,124].

Для трансплацентарной передачи возбудителя ПВИС требуется около 10 - 14 дней. При раннем инфицировании свиноматка повторно приходит в охоту через 21 сутки после осеменения или позже, что, по-видимому, связано с гибелью и рассасыванием эмбрионов. При проникновении вируса в ткани плода в период кальцинирования скелета (30 - 35 сутки супоросности) происходит мумификация плода в связи с невозможностью развития костной ткани. Поражение на более поздних сроках проявляется мертворождением и абортами. Резистентность к ПВС наступает в период с 68-х по 72-е сутки супоросности, что связано с синтезом нейтрализующих антител [59, 90, 117].

Локализация вируса: при инфицировании развивается виремия, в связи с тем, что основным депо, в организме животного, для вируса является лимфатическая система, накопление вируса происходит в цитоплазме внутренних органов плода

и плаценте. Возбудитель выделяется из фекалий, мочи, полового секрета и спермы, у хряков вирус локализуется в семенниках [14, 51, 90].

Экономический ущерб от парвовируса складывается из недополучения приплода, низкого уровня оплодотворяемости и ограничений на ввоз и вывоз животных из неблагополучных по заболеванию хозяйств [23,59].

Диагностика парвовируса основывается на нарушении репродуктивной функции свиноматок, окончательный диагноз ставится на основании лабораторных исследований, которые включают в себя электронную микроскопию, реакцию гемагглютинации (РГА), реакцию торможения гемагглютинации (РТГА), реакцию нейтрализации, реакцию диффузной преципитации (РДП) и иммуноферментный анализ (ИФА). Электронную микроскопию применяют для выделения возбудителя в патологическом материале и фекалиях. РГА используется для выявления антигена ПВИС у абортированных плодов. РТГА используется для обнаружения специфических антител в сыворотке крови инфицированных или иммунизированных животных. Реакция нейтрализации является надежным методом обнаружения ПВИС, но в связи с трудоемкостью и длительностью постановки в сравнении с вышеперечисленными реакциями используется редко. РДП - это простой, чувствительный метод для обнаружения и количественной оценки антител в сыворотке крови. ИФА – очень разноплановый метод диагностического анализа и зачастую используется как для выявления антител к возбудителю, так и для обнаружения возбудителя в тканях патологического материала [117, 124].

Колостральный иммунитет обеспечивается интерферонами и антителами. Интерферон попадает в организм поросёнка через плаценту, а антитела только с молозивом. Через двое суток после приёма молозива у поросёнка отмечается максимальный уровень антител (при этом количество вируснейтрализующих антител обычно в 10 - 12 раз выше, чем у свиноматки), но через 10 дней он, как правило, снижается до материнского уровня. При переболевании ПВИС свиноматки передают колостральные антитела поросятам. Причём уровень антител в молозиве в 5 раз выше, чем в сыворотке крови иммунных свиноматок. Антитела

к парвовирусу отмечали у поросят-сосунов, начиная с 2-суточного возраста; продолжительность колострального иммунитета - 112 - 168 суток, однако, по данным ряда авторов, колостральные антитела у поросят от вакцинированных свиноматок обнаруживали до 176 дней после рождения. С 182 суток животные становятся серонегативными к возбудителю ПВИС, а спустя 7 - 10 суток - восприимчивыми к ПВИС. Колостральный иммунитет у поросят, полученных от вакцинированных против ПВИС свиноматок, сохраняется на высоком уровне в течение 35 - 45 суток. Принято считать, что определённую трудность при вакцинации животных может создать наличие у подсвинков высокого уровня материнских (колостральных) антител и его влияние на развитие поствакцинального иммунитета [23, 39, 40, 57].

Анализ литературных данных подтверждает актуальность изучения вопроса профилактики ПВИС в связи с его высокой распространённостью, высоким уровнем вирулентности и сохранением возбудителя во внешней среде [33, 39, 59].

1.3. Специфическая профилактика рожи и парвовирусной инфекции свиней

Профилактика основана на выполнении комплекса организационных, зоотехнических, зоогигиенических и ветеринарно-санитарных мероприятий. Общие мероприятия включают в себя неукоснительное соблюдение санитарных и технологических требований по кормлению, размещению и уходу за свиньями, плановую своевременную уборку и дезинфекцию помещений, плановую дератизацию [8, 18, 20, 27, 57].

Надежным способом профилактики является иммунизация восприимчивого поголовья свиней живыми и инактивированными вакцинами. В Российской Федерации с целью специфической профилактики заболевания применяют моновалентные живые сухие вакцины против рожи свиней на основе штамма ВР-2. Изготовление живых сухих вакцин против парвовируса на данный момент невозможно в связи с отсутствием выделенного атеннуированного штамма ПВИС.

Инактивированные вакцины против рожи и парвовирусной инфекции свиней используются как в моновалентных вариантах, так и в ассоциированных. Подавляющее большинство инактивированных вакцин против рожи свиней изготовлено из штамма М-2 [5, 59, 66, 79, 80].

Ассоциированные вакцины наряду с антигеном рожи свиней содержат инактивированные антигены парвовирусной инфекции, лептоспир, вируса болезни Ауески, репродуктивно-респираторного синдрома свиней. Такие вакцины являются более предпочтительными из-за отсутствия побочных явлений [5, 37, 53, 57, 77, 84, 93].

Для ремонтного молодняка и поросят на откорме в основном применяют моновалентные средства специфической профилактики против рожи свиней. Продолжительность иммунитета составляет до 5 - 6 месяцев в зависимости от препарата. Для иммунизации свиноматок используют ассоциированные вакцины, тем самым профилактируя как рожу, так и ряд других заболеваний [5, 58, 59].

В настоящее время на территории Российской Федерации зарегистрировано более 10 средств специфической иммунопрофилактики рожи свиней отечественного производства, которые в равной степени делятся на живые и инактивированные вакцины, а также более 10 инактивированных препаратов зарубежного производства [16, 37].

Основной проблемой биопрепаратов, представленных на рынке, является использование узкого спектра штаммового разнообразия, сниженный антигенный и иммуногенный ответ препарата: так, практически все инактивированные вакцины, зарегистрированные на территории РФ, используют в своем составе штамм М-2, который, несмотря на отличные антигенные свойства, не обеспечивает необходимого иммунного ответа на всю линейку полевых патогенов, циркулирующих на территории страны [2, 5, 16, 37, 123].

Главным недостатком живых вакцин против рожи свиней является возможность реверсibility, высокая степень реактогенности, а также проблемы с безвредностью, которые минимизируются при использовании инактивированных вакцин с применением оптимального состава препарата.

Применение инаktivированных эмульсионных вакцин считается более перспективной стратегией в профилактике инфекционных болезней в связи с достаточно высоким уровнем иммуногенности, который сохраняется довольно продолжительный период времени, и экономической составляющей вследствие сокращения количества инъекций в случае применения ассоциированных препаратов. Однако применение инаktivированных эмульсионных вакцин в ряде случаев приводит к появлению поствакцинальных стерильных абсцессов или гранулем, снижающих качество мяса, пролиферативному воспалению и проявлению анафилаксии, что по большей мере связано с использованием устаревшего или неподходящего адъюванта [37, 122, 124].

Оценивая вакцинацию животных против парвовирусной инфекции свиней инаktivированными средствами специфической профилактики на свиномкомплексах, следует отметить сложившееся положительное влияние на эпизоотическую обстановку [3, 13, 14, 20].

Широкий спектр моно- и ассоциированных вакцин, представленных на рынке, не в полной мере удовлетворяет потребность покупателя в защитных свойствах средств специфической профилактики, однако отечественная вакцина против парвовируса свиней производства ВНИИЗЖ отличается антигенными свойствами и иммуногенной активностью, удовлетворяющими потребности потребителя [37, 41, 43].

1.4. Общие принципы конструирования инаktivированных вакцин

Основной стратегией борьбы с инфекционными заболеваниями в промышленном свиноводстве является специфическая иммунопрофилактика. Применение инаktivированных и живых вакцин вкупе создает необходимую продолжительность иммунного ответа и накопление антител, однако использование различных типов препаратов оказывает как положительное, так и отрицательное действие на организм. На данный момент лидирующую позицию в вакцинопрофилактике занимает использование инаktivированных препаратов в

связи с их высокой степенью безопасности, безвредности и ареактогенности, увеличенным сроком стабильности и более прогнозируемым планом специфической профилактики, который, в свою очередь, обеспечивает более выгодную финансовую стратегию в сравнении с живыми средствами специфической профилактики [5,8,30,35,44,115].

Технология изготовления инаktivированных препаратов включает в себя такие пункты, как:

- культивирование возбудителя, который может быть как вирусным, так и бактериальным;
- инаktivация возбудителей и концентрирование полученного антигена;
- объединение антигенов и адьюванта при эмульгировании вакцин.

Активность полученного препарата зависит от протективного спектра выбранного штамма, чистоты антигена, к которой относятся балластные примеси, получаемые при культивировании возбудителя, оптимального количества инаktivанта и консерванта, тщательного подбора и качества адьюванта [41, 44, 50, 53, 80].

1.5. Изготовление инаktivированных эмульсионных средств специфической профилактики

Для изготовления средств специфической профилактики необходимо углубиться в суть вакцинологии, которая объединяет методы изготовления, способы конструирования, лабораторные испытания и применение препаратов с целью фиксации клинических изменений и профилактики инфекционных болезней. Вакцинология тесно связана с другими научными дисциплинами, такими как вирусология, микробиология, иммунология и еще ряд не менее важных научных направлений [16,17,27,43].

Мировой рынок инаktivированных вакцин находится в прогрессивной фазе; связано это с постоянным усовершенствованием компонентов вакцин. Одним из важнейших элементов эмульсионных средств специфической профилактики,

наряду с антигеном, является адъювант, который в большей степени выступает как стимулятор иммунного ответа. Разработка новых адъювантов ведется постоянно и основывается на изучении свойств возбудителей вирусной и бактериальной этиологии [18, 20, 65, 66, 118].

Специфичность стимулирования иммунного ответа и реакция организма на введенный препарат моделируются еще на этапе разработки нового вида адъюванта [48, 64, 74, 118].

Для профилактики рожи свиней по всему миру используют два типа инактивированных вакцин: первый – сорбированный (вакцина сделана на основе гидроксида алюминия), второй – эмульсионный (в основе вакцины масла минерального происхождения). Для профилактики парвовирусной инфекции свиней широко распространены эмульсионные вакцины [66, 87, 97].

Первые упоминания об инаktivации возбудителя датируются 1923 годом; именно тогда Гастон Рамон описал инаktivирующие свойства формалина. Для производства качественного антигена инаktivацию производят самыми различными способами; выбор инаktivирующего агента основывается на свойственных возбудителю признаках, таких как устойчивость к резкому повышению или понижению температуры, ультрафиолету, перегрузкам, токсическим факторам, радиации, чувствительность клеточной стенки к физическому воздействию и ультразвуковым колебаниям. Важно отметить, что подбор инаktivирующего средства очень индивидуален, но в связи с многолетним изучением данного вопроса сформировались общепринятые решения инаktivации возбудителей, которые, в свою очередь, помогают сузить спектр веществ и значительно сократить время для поиска нужного компонента [15, 18, 20].

Для инаktivации бактерий в основном используют химический метод, в котором зачастую применяют три вещества:

Первое - 1-(2-аминоэтил)-азиридин (далее - димер), сильный яд, традиционно используется для инаktivации возбудителей бактериальной и вирусной этиологии с начала XX века [19, 28, 29, 42, 49, 63, 73].

Второе - β -пропиолактон, бесцветная жидкость со сладковатым запахом; при комнатной температуре распадается на углекислый газ и воду, но сохраняет свойства при 5 °C в стеклянной таре. Его склонность к нестабильности и вступлению в реакцию с другими биомолекулами, находящимися поблизости, обуславливает высокую токсичность и практическое применение в биотехнологии, однако сложности, связанные с высокой ценой и труднодоступностью, отталкивают производителей от использования его в качестве основного инактивирующего компонента [36, 37, 46, 47, 55, 86].

Третье – формальдегид, бесцветная жидкость с едким запахом; встречается в природе в процессе жизнедеятельности живых существ, широко используется на практике при производстве иммунобиологических препаратов как инактивант [2, 84, 91].

Также встречается радиационный тип инактивации γ -лучами, широко распространенный в медицине и используемый при разработке биопрепаратов и инновационных способов лечения, однако он труднодоступен в связи со спецификой применения [322, 323, 324].

Добавление адъювантов в состав вакцины обусловлено необходимостью локализации антигена и его длительной резорбции, что повышает иммуногенность конечного продукта. Адъювантные системы, используемые при производстве эмульсионных вакцин, очень разнообразны по своим физико-химическим качествам. Свойства вакцины во многом зависят от физико-химических характеристик, таких как лиофильность и лиофобность масла, вязкость, устойчивость к изменению внешней среды, а также от эмульгатора, входящего в состав адъюванта. Состав играет немалую роль в создании вакцин; связано это не столько со свойствами вакцины при производстве, сколько с ее применением на целевых животных. Однако стоит отметить, что многие адъюванты, представленные на рынке, имеют очень четкий регламент условий приготовления эмульсии и сложности, связанные с техническим обеспечением, необходимым для соблюдения технических условий [16, 17, 32, 56, 62].

На данный момент в мировой практике вакцинологии различают три группы адъювантов: 1) сорбенты, одними из которых являются гель гидроокиси алюминия (ГОА) и гель полиакриловой кислоты; 2) масляные адъюванты, которые различаются по вязкости и разделяются на типы эмульсий: прямая - масло в воде, обратная - вода в масле и эмульсия «вода в масле в воде» 3) микроэмульсионные адъюванты, также подразделяющиеся на прямую – масло в воде и обратную - вода в масле [17, 31, 32, 52, 65].

Разработка ассоциированных вакцин подразумевает изучение множества специфических свойств компонентов. Так для изготовления высококачественных средств специфической профилактики необходимо учитывать не только количество антигена, но и корректное взаимодействие возбудителей в одной иммунизирующей дозе. При объединении компонентов одним из главных вопросов является конкуренция антигенов. Первое упоминание о данной проблеме было обнаружено L. Michaelis: так, при одновременном введении антигенов возбудителей холеры и брюшного тифа кроликам было замечено снижение титров антител. Другой стороной данного вопроса является синергизм антигенов. Синергизм - эффект, возникающий при смешивании антигенов и обусловленный стимулирующим действием антигена одного возбудителя на иммунный ответ другого. Решение вопроса конкуренции и синергизма кроется в подборе отдельных компонентов, входящих в состав ассоциированных вакцин [85, 114, 124].

Обращая внимание на побочные реакции, которые в большей степени связаны с использованием ассоциированных препаратов, а в меньшей - с применением моновакцин, предпочтительнее остается использование ассоциированных препаратов ввиду снижения финансовых и трудовых затрат ресурсов, сокращения количества иммунизаций поголовья и, впоследствии, увеличения экономического выхода от прироста живой массы животных [96, 97, 98].

1.6. Контроль качества средств специфической профилактики

Производство средств специфической профилактики - достаточно многогранная и обширная тема, включающая в себя не только разработку препарата, но и контроль разработанного продукта. В связи с различием вакцин, их свойств и разнообразием компонентов, используемых при их разработке и производстве, необходимо учитывать параметры проведения контроля и актуальность используемого метода. Одной из основных проблем контроля вакцин является стандартизация: на данный момент насчитывается более 10 методов испытаний, нацеленных на исследование таких показателей, как внешний вид, стабильность, безвредность, реактогенность и стерильность препарата [5,16,37,112].

Определение внешнего вида основывается на инструкции, а методикой является визуальный осмотр, который проводится индивидуально для каждого препарата. Так, описание эмульсионных вакцин может включать определение цветовой гаммы, прозрачности, вязкости, наличие или отсутствие частиц или взвесей, а в случае лиофилизированных вакцин - пористость таблетки или фракцию порошка [43,65].

Стабильность эмульсии для инактивированных средств специфической профилактики, использующих в своем составе водно-масляную фракцию, - это показатель качества для определения однородности эмульсии, нарушение которой может повлечь необратимые процессы под названием «коалисценция», при которых происходит видимое разделение фаз на водную и масляную. Методы, используемые для определения стабильности эмульсии, складываются из: центрифугирования; метода ускоренного старения, при котором вакцину помещают в термостат при 37 °C и оставляют на срок до 15 суток, что приравнивается к 6 месяцам хранения вакцины при 4±2 °C (по истечению которых препарат не должен потерять своих свойств, описанных в инструкции) и экспресс-метода последовательного оттаивания и замораживания при помещении образца в различные температурные условия, колеблющиеся от -40 °C до +37 °C. Все методы

испытаний нацелены на выявление структурных изменений эмульсии; в случае сохранения исходных свойств вакцина считается стабильной [27, 43].

Одной из основных задач в вакцинологии является получение стерильного и безопасного продукта [5, 17, 18, 88, 91].

Определение стерильности препаратов происходит путем высева образца на питательные среды для культивирования микроорганизмов различных морфологических групп. Испытания проводятся в соответствии с ГОСТ 28085-2013 «Средства лекарственные биологические для ветеринарного применения». Основной проблемой данного метода контроля является подбор оптимальной питательной среды. Наиболее широко применяемыми в практике считаются питательные среды на мясо-пептонной, соево-казеиновой и тиогликолевой основе, а также среды Сабуро, Китта-Тароцци и перевар по Хоттингеру. Испытание препарата на стерильность считается успешно пройденным, если ни на одной инокулируемой питательной среде не было замечено роста патогенной микрофлоры [8, 9, 11, 58].

Реактогенность и безвредность определяются при помощи проведения опыта на лабораторных и восприимчивых животных. Определение безвредности производят по общей реакции организма, ссылаясь на ГОСТ 31926-2013 «Средства лекарственные для ветеринарного применения. Методы определения безвредности». Настоящий стандарт распространяется на методы определения безвредности и токсичности лекарственных средств для ветеринарного применения и устанавливает дозы, способы введения лекарственного средства и виды испытаний. Разрабатываемый препарат может вызвать множество поствакцинальных осложнений, обусловленных токсическим действием, реверсibilidade (в случае применения живых вакцин) и неполной инаktivацией (в случае инаktivированных), а также специфической реакцией вследствие повышения чувствительности организма. Инаktivированная вакцина считается безвредной, если все животные опытной группы, привитые дозой, превышающей в 2 или 4 раза рекомендуемую производителем и описанную в нормативном документе, живы и остаются клинически здоровыми [12, 14, 55, 58, 68, 76].

Исследование реактогенности производят путем оценивания местной реакции препарата, в том числе воспаления и локального повышения температуры, а также последующего анатомо-патологического вскрытия места инъекции. Препарат считается ареактогенным в случае отсутствия патологических изменений в организме животного [12, 19, 58, 76].

Иммуногенность – ключевое звено во множестве методов контроля биопрепарата, которое подразумевает соблюдение ряда правил при проведении опыта. Так, определение модели лабораторных животных подразумевает использование типа, максимально схожего по иммунному ответу, с восприимчивыми животными, однако стоит учитывать, что для некоторых возбудителей крайне сложно подобрать доступный лабораторный макет. Однократная иммунизация испытуемым препаратом для определения степени иммуногенности более предпочтительна в связи с минимизацией факторов, присутствующих в опыте. При использовании серологических реакций для подтверждения напряженности иммунитета необходимо выстраивать корреляцию между уровнем антител в исследуемых сыворотках крови животных и протективными свойствами биопрепарата [5, 13, 17, 18, 43, 46, 61].

Проблема контроля препаратов решается изучением актуальных методов, подбором наиболее подходящих критериев для оценки качества разрабатываемого препарата [5, 46, 50, 53].

1.7. Заключение по обзору литературы

На основании изученных данных отечественных и зарубежных исследователей выявлено, что рожа и ПВИС остаются актуальными на сегодняшний день инфекциями свиней, повсеместно распространёнными, в том числе в Российской Федерации, среди различных половозрастных групп. В группу риска входят супоросные свиноматки и молодое поголовье, в которое вложено множество финансовых и трудовых ресурсов [1, 3, 5, 6, 14, 38, 59, 71].

При вспышке как рожа, так и парвовирусная инфекция наносят большой экономический ущерб, связанный со снижением веса, выбраковкой, падежом, мертворождением и недополучением приплода [90,101,107,120,121].

Основной стратегией в борьбе с инфекциями остается иммунопрофилактика как живыми, так и инактивированными препаратами. Состав вакцины имеет огромное значение, причем не только в качестве вирусного или бактериального сырья, но и компонентов, входящих в состав антигена: инактиванта и адъюванта [14, 16, 18, 20].

Средства специфической профилактики, используемые на данный момент, не в полной мере отвечают требованиям конечного пользователя в отношении напряженности иммунитета в связи с использованием узкого спектра или устаревших вакцинных штаммов рожи свиней, применением в качестве инактивантов и консервантов веществ, ухудшающих иммуногенные свойства вакцины, а также использованием адъювантов, не обеспечивающих стимуляцию иммунного ответа в организме животного. Своевременное решение проблемы борьбы с инфекционными болезнями подразумевает разработку актуальных биологических препаратов и средств диагностики. По мнению ряда авторов, одной из важнейших проблем вакцинологии является стандартизация методов контроля и оценки качества вакцин; в связи с этим используется множество методов для подтверждения заявленных свойств разрабатываемого препарата [27, 40, 43, 59, 67, 68].

Исходя из необходимости разработки вакцин необходимо решить ряд задач, таких как: подбор оптимального штаммового состава, определение параметров культивирования и инактивирования возбудителей, использование актуального адъюванта, установление методов контроля для возможности дальнейшего применения готового препарата.

В связи с этим представляется необходимым проведение исследований по разработке технологии изготовления препаратов и изучению иммунобиологических свойств вакцин против рожи, а также против рожи и ПВИС, которые расширят отечественный арсенал профилактики инфекционных болезней свиней и имеют практическое и экономическое значение для агропромышленного комплекса Российской Федерации.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы

Бактерии. В работе использованы два штамма возбудителя рожи свиней:

- *E. rhusiopathiae* «БД-23» - производственно-контрольный эпизоотический штамм, выделенный на территории РФ;

- *E. rhusiopathiae* «М-2» - производственно-контрольный эпизоотический штамм, переданный из международной коллекции штаммов микроорганизмов.

Вирус. В работе использовали эпизоотический штамм «ВЛ-94» вируса парвовирусной инфекции свиней, задепонированный ранее в ГКШМ ФГБУ «ВНИИЗЖ» как производственный.

Растворы и питательные среды. Культивирование *E. Rhusiopathiae* осуществляли в питательных средах: мясо-пептонный бульон (МПБ); мясо-пептонный агар (МПА) (готовили с добавлением бакто-агара фирмы «Difco», США, в пропорции 16 г/л); бульон на основе мясного перевара по Хоттингеру; агар на основе мясного перевара по Хоттингеру (готовили с добавлением бакто-агара фирмы «Difco», США, в пропорции 16 г/л); соево-казеиновый бульон; соево-казеиновый агар (готовили с добавлением бакто-агара фирмы «Difco», США, в пропорции 16 г/л); сердечно-мозговой бульон; агар на основе сердечно-мозгового бульона (готовили с добавлением бакто-агара фирмы «Difco», США, в пропорции 16 г/л).

Клеточные культуры. В исследованиях использовали перевиваемую культуру клеток ППК (почки поросенка).

Реактивы и специфические компоненты. При выполнении исследований применяли: физиологический буферный раствор (ФБР) с pH 6,8 - 7,2; сыворотку лошади нормальную для культивирования микроорганизмов стерильную, производства АО «НПО «Микроген»

Использовали адъюванты производства фирмы Seppic (Франция): масляный адъювант Montanide ISA 70; масляный адъювант Montanide ISA 28R; масляный

адъювант Montanide ISA 201; микроэмульсионный, масляный адъювант Montanide IMS 1313; микроэмульсионный, масляный адъювант Montanide IMS 2215.

Инактивацию проводили с применением: водного раствора 1-(2-аминоэтил)-азиридина (димер) производства ИП Чуев К. А. (ООО НПП «Биохимсервис»); формалина технического производства АО «База №1 Химреактивов» (ООО «Лихим»); β -пропиолактона фармацевтического производства «Molekula group» (Великобритания).

Диагностические наборы. Серологическую диагностику проводили при помощи: коммерческого набора ИФА для обнаружения или титрования специфических антител к *E. rhusiopathiae* Ingezim Mal Rojo, фирмы INGENASA (Испания); коммерческого набора для серодиагностики парвовирусной инфекции свиней производства ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Идентификацию бактерий до вида выполняли при помощи коммерческого набора для определения коринеформных бактерий API Coryne, фирмы BioMerieux (Франция).

Бактериологические красители. Для окраски по Грамму в работе использовали отечественный коммерческий набор фирмы «НПФ Арбис+».

Вакцины. В работе использовали: эмульсионную инактивированную вакцину против рожи и парвовирусной инфекции свиней «ВНИИЗЖ - ЭриПВИС» (производство ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир); эмульсионную инактивированную вакцину против рожи и парвовирусной инфекции свиней «ВНИИЗЖ - ЭризеВак» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»); вакцину против рожи и парвовирусной инфекции свиней инактивированную (Нидерланды); вакцину против парвовирусной инфекции и рожи свиней инактивированную (Испания); вакцину против рожи свиней инактивированную (Нидерланды); вакцину против рожи свиней инактивированную (Испания).

Животные. В исследованиях использовали подопытных животных различных видов и возрастных групп:

- поросята-отъёмыши в возрасте 45-92/122 дня;
- ремонтные свиньи, массой 40-45 кг;

2.2. Методы

Бактериологический анализ патматериала. Получение изолятов *E. rhusiopathiae*. Бактериологическое исследование проводили на животных, содержащихся в свиномкомплексах 1, 2 и 3 компартментов. Патологический материал, в том числе кровь и пораженные участки эндокарда, отобранный при убое, высевали в пробирки, содержащие питательные среды МПБ и МПА. После инкубирования в течение 24 - 36 часов при температуре $37 \pm 0,5$ °C делали, пересев на СМБ. Выделение чистой культуры микроорганизма, определение ее свойств и дальнейшие бактериологические исследования проводили согласно методикам и инструкциям к используемым препаратам («Методические указания по лабораторной диагностике рожи (эризипелоида) свиней» (утв. Минсельхозом России 26.01.2001 N 13-5-02/0005)). [34]

Методы идентификации. Морфологические свойства *E. rhusiopathiae* определяли методом световой микроскопии ($\times 100$) фиксированных мазков бактерий, окрашенных по Граму с использованием коммерческого набора.

Серодиагностику рожи свиней выполняли методом ИФА (наборы Ingezim Mal Rojo), парвовирусной инфекции — с применением набора ФГБУ «ВНИИЗЖ»;

Учет результатов проводили в соответствии с инструкцией по применению наборов.

Видовую принадлежность бактерии идентифицировали в соответствии с инструкцией по применению набора для определения коринеформных бактерий API Coryne (BioMerieux, Франция).

Гемолитические свойства исследуемого возбудителя оценивали путём посева бактериальной культуры на кровяной сердечно-мозговой агар. Тип гемолиза определяли по характеру изменений среды вокруг колоний: α -гемолиз регистрировали при формировании зоны неполного лизиса эритроцитов, проявляющейся в виде зеленоватого ореола вокруг колоний; β -гемолиз — при

образовании полностью обесцвеченной (прозрачной) зоны, свидетельствующей о полном разрушении эритроцитов. (СТО 00495527-0482-2023, Приложение 3; СТО 00495527-0491-2023, Приложение 4).

Протеомические свойства изолятов *E. rhusiopathiae* определяли методом времяпролетной масс-спектрометрии с применением MALDI-TOF, на масс-спектрометре MALDI Autof s2000 (Autobio Diagnostics Co., Китай)

Молекулярно-генетические свойства определяли путем генетической идентификации микроорганизма в соответствии с методическими указаниями по индикации генома бактерии *E. rhusiopathiae* методом полимеразной цепной реакции. Филогенетическое родство определяли в соответствии с методическими указаниями по полногеномному секвенированию на основе коровых генов из базы данных GenBank с помощью генетических анализаторов Applied Biosystems 3130 и b 3130xl.

Культивирование возбудителя парвовирусной инфекции свиней. В работе использовали лиофилизированный штамм «ВЛ-94» из ГКШМ ФГБУ «ВНИИЗЖ». Культивирование проводили путем пассирования на перевиваемой культуре клеток ППК с добавлением 10% фетальной сыворотки КРС и питательной среды ПСП, после чего инкубировали при $t=37\pm 2$ °C в течение 48 - 72 часов до появления ЦПД вируса более чем в 50% клеток моно слоя. Затем суспензию двукратно замораживали и оттаивали. (СТО 00495527-0190-2018).

Культивирование *E. Rhusiopathiae*. В работе использовали лиофилизированные штаммы рожи свиней «БД-23» и «М-2», разбавленные 0,5 см³ стерильного ФБР. Полученную суспензию высевали на чашки Петри с плотной питательной средой (СМА) с добавлением 10% стерильной лошадиной сыворотки и инкубировали при $t=37\pm 0,5$ °C в течение 24 часов. После этого полученную культуру микроорганизма пересеивали во флаконы с жидкой питательной средой (СМБ) и инкубировали при $t=37\pm 0,5$ °C в течение 18 - 24 часов. Чистоту бактериальной суспензии проверяли методом световой микроскопии мазков, окрашенных по Граму [6, 22, 24].

Инактивация *E. Rhusiopathiae*. Изучение процесса инаktivации микроорганизма *E. rhusiopathiae* проводили при $37\pm 0,5$ °C с использованием трех видов инактивантов: водного раствора 1-(2-аминоэтил)-азиридина (димер) производства ИП Чуев К. А. (ООО НПП «Биохимсервис»), формалина технического с содержанием формальдегида не менее 36 % производства АО «База № 1 Химреактивов» (ООО «Лихим») и β -пропиолактона фармацевтического производства «Molekula group» (Великобритания).

При определении параметров инаktivации в бактериальную суспензию объемом 100 см³ каждый препарат вносили в количестве 0,1, 0,2 и 0,4 %. Концентрацию живых микробных клеток определяли до инаktivации, в последующие 4 часа - через каждые 60 мин, в следующие 20 часов - через каждые 120 минут после внесения инактиванта [75, 76, 77, 84, 90, 112].

Концентрацию микробных клеток в суспензии определяли путем высева последовательных разведений на плотные питательные среды, рассчитывали среднее значение; единицы измерения выражали в КОЕ. Расчет концентрации микробных клеток производили по формуле И.П. Ашмарина, А. А. Воробьева [6]:

$$N = \frac{C}{((N_1 + 0,1 \times N_2) \times D)} [1], \text{ где}$$

N - искомое значение КОЕ;

C - сумма подсчитанных колоний на всех чашках Петри с плотной питательной средой;

N₁ - количество чашек Петри первого разведения;

N₂ - количество чашек Петри второго разведения;

D - коэффициент первого разведения.

По окончании инаktivации бактериальную суспензию хранили в холодильной камере при $t = 4\pm 2$ °C.

Контроль полноты инаktivации возбудителя рожи свиней *E. rhusiopathiae* проводили путем подсчета колониеобразующих единиц на поверхности чувствительных питательных сред. При отсутствии колониеобразующих единиц на поверхности агар компонента рожи свиней в ассоциированной вакцине считали

полностью инаktivированным согласно приказу 13-5-2/1062 от 17 октября 1997 г. и ГОСТ 28085-89

Полноту инаktivации оценивали путем извлечения антигенов возбудителя рожи свиней и ПВИС из вакцины и заражения ими чувствительных тест-систем. При отсутствии ЦПД в матрасах 2-го пассажа в течение 96 ч антиген ПВИС считали авирулентным согласно приказу 13-5-2/1062 от 17 октября 1997 г. и ГОСТ 28085-89

Изготовление лабораторного образца экспериментальной эмульсионной вакцины против рожи свиней

Для изготовления экспериментальной вакцины против рожи и парвовируса свиней в качестве рожистого компонента использовали суспензию двух инаktivированных штаммов бактерии *E. rhusiopathiae*, а именно штаммов «БД-23» и «М-2», концентрированных методом центрифугирования; парвовирусный антиген был представлен одним штаммом «ВЛ-94».

В качестве адъюванта использовали 5 готовых импортных масляных адъювантов фирмы Montanide (производства Франции), стерилизацию проводили согласно инструкции, прилагаемой производителем. Объединение компонентов для приготовления опытных образцов проводили с учетом конечной концентрации бактерий рожи свиней не менее 5×10^9 м.к. и гемагглютинирующей активности ПВИС не менее 1:256.

Готовые антигены рожи и ПВИС смешивали с различными адъювантами, в том числе с адъювантами микроэмульсии, не нуждающимися в эмульгировании, а также с масляными адъювантами, которые эмульгировали при помощи аппарата Сильверсон, контролируя температуру эмульсии 12 ± 10 °С и скорость эмульгирования в пределах 3000 об/мин. Смешивание компонентов выполняли в соответствии с рекомендациями производителя, добавляя антиген в постоянно перемешивающийся адъювант. Образцы вакцины были изготовлены не только из различных адъювантов, но и в разных пропорциях самих антигенов, а также в

различных соотношениях антигенов и адъюванта, согласно рекомендациям производителя.

Контроль экспериментальных образцов эмульсионной вакцины против рожи, а также против рожи и парвовирусной инфекции свиней

Контроль препарата осуществляли путем определения безвредности, стабильности, вязкости, полноты инаktivации, стерильности, иммуногенной активности, а также оценки внешнего вида.

Исследование внешнего вида, наличия посторонних примесей, изменения цвета и консистенции проводили путем визуального осмотра, встряхивания каждого флакона и просмотра в проходящем свете, переворачивая их пробкой вниз; одновременно проверяли герметичность укупорки и целостность флаконов согласно нормативному документу «Ветеринарные препараты. Показатели качества. Требования и нормы» утвержденному начальником Департамента ветеринарии Минсельхозпрода Российской Федерации В.М. Авиловым от 17 октября 1997 г. № 13-5-2/1062, а также ГОСТ 28085-89

Контроль на отсутствие контаминации бактериальной и грибковой микрофлорой (определение стерильности) проводили в соответствии с ГОСТ 28085 и ГФ XIV, том I, с. 1201 - 1222 (ОФС.1.2.4.0003.15) [12]. Во всех исследуемых пробах не допускается наличие бактериальной и грибной микрофлоры.

Для определения безвредности и реактогенности препарата были использованы поросята двухмесячного возраста в количестве 20 голов массой не менее 18 - 22 кг, которые были разделены на четыре группы по 5 голов в каждой (3 опытные и 1 контрольная). Каждую опытную группу использовали для контроля одной экспериментальной серии вакцины. Опытные и контрольная группы в свою очередь были разделены на две подгруппы: по 3 головы для исследования безвредности и по 2 головы для исследования реактогенности. Образцы вакцины считались безвредными, если целевые животные в течение 28 сут оставались живы

и были клинически здоровыми, без каких-либо патологических изменений. В месте введения вакцины изменения должны отсутствовать согласно (приказу 13-5-2/1062 от 17 октября 1997 г. и ГОСТ 28085-89).

Образцы вакцины считались ареактогенными, если все поросята, участвующие в опыте, в течение 28 суток оставались живы и были клинически здоровыми, а в месте введения препарата отсутствовали патологоанатомические изменения.

При проведении исследований препаратов на вязкость руководствовались стандартом ФГБУ «ВНИИЗЖ» СТО 0495527-0230 «Доклинические исследования иммунобиологических лекарственных средств для ветеринарного применения» (утвержден директором ФГБУ «ВНИИЗЖ» 04.07.2018). Изучение вакцины против рожи и парвовирусной инфекции свиней инактивированной эмульсионной на этапе доклинических исследований проводили по следующим показателям: стабильность эмульсии и определение кинематической вязкости.

Стабильность эмульсии экспериментальных образцов вакцины определяли методом центрифугирования при 4000 об/мин (не менее 2147 g) в течение 10 минут и тестом «ускоренного старения» при температуре $(37,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$.

Кинематическую вязкость определяли согласно государственной фармакопеи XIV, том I, стр. 595-601 (ОФС.1.2.1.0015.15), расчет кинематической вязкости жидкости производили по формуле из паспорта АКЛ 2.842012 к вискозиметру ВПЖ-2 (заводской номер 1322):

$$V = \frac{g}{9,807} \times T \times K [2], \text{ где}$$

K – постоянная вискозиметра 0,02505;

T – время истечения жидкости в секундах;

V – кинематическая вязкость жидкости в $\text{мм}^2/\text{с}$;

g – ускорение свободного падения в месте измерений;

Эмульсию считали стабильной, если после центрифугирования или хранения при температуре $(37,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ в течение 30 суток на дне пробирки не отделялась

водная фракция. Допускалось образование осадка антигена серого цвета на дне пробирки. Кинематическая вязкость препарата не должна превышать 100 мм²/с.

Сущность метода определения полноты инактивации антигенов заключается в потере способности возбудителей репродуцироваться в чувствительных тест-системах.

Отобранную пробу антигена ПВИС разводят питательной средой или фосфатно-буферным раствором (ФБР) 1:10. По 1,0 см³ приготовленного разведения вносят в 3 культуральных матраса объемом 50 см³ с монослоем культуры клеток ППК, выдерживают 30 мин в термостате при температуре 37±1 °С и добавляют по 9 см³ питательной среды. Два неинфицированных культуральных матраса оставляют в качестве контроля. Матрасы с культурой клеток инкубируют в течение 48 - 72 ч при температуре 37±1 °С с ежедневной микроскопией на наличие ЦПД. Через 48 - 72 ч инкубирования матрасы с культурой клеток замораживают при температуре минус 20±2 °С. При отсутствии ЦПД в монослое клеток ППК первого пассажа через 48 ч инкубирования и при гемагглютинирующей активности культуральной жидкости в РГА не более 1:4 исследуемый антиген ПВИС считается полностью инаktivированным. При наличии ЦПД и отрицательном результате в РГА (гемагглютинирующий титр культуральной жидкости в РГА не более 1:4) содержимое матрасов с измененным монослоем используют для проведения второго пассажа. При отсутствии ЦПД в матрасах 2-го пассажа в течение 48 ч инкубирования антиген ПВИС считается полностью инаktivированным.

Полнота инаktivации антигена бактерий *E. rhusiopathiae* подразумевает посев пробы в объеме по 0,5 - 1,0 см³ на 3 чашки Петри с разлитой на них чувствительной питательной средой – сердечно-мозговым агаром. Две чашки Петри оставляют интактными в качестве контроля. Чашки Петри ставят в термостат на 24 ч с поддерживаемой температурой 37±1 °С. По истечении периода инкубирования проверяют ростовые свойства микроорганизма методом подсчета колониеобразующих единиц. При отсутствии колониеобразующих единиц на

поверхности агара компонент рожи свиней в вакцине считается полностью инаktivированным.

Проверку стабильности вакцины в течение 12 месяцев, предполагаемого срока годности, при $t^{\circ} = 4 \pm 2^{\circ} \text{C}$ проводили путем определения соответствия показателей качества изготовленной вакцины по паспорту, а также хранившейся в течение 3, 6, 9 и 12 месяцев. От каждой серии отбирали флаконы с вакциной с последующим исследованием этих проб по показателям качества в соответствии с проектом СТО. Для оценки иммуногенности препарат вводили двукратно с интервалом в 21 день в объеме $2,0 \text{ см}^3$ внутримышечно в область верхней трети шеи.

В исследовании использовали серонегативных по отношению к возбудителю рожи свиней и вирусу ПВИС ремонтных свинок массой 40 - 45 кг в количестве 20 голов, доставленных из специализированных питомников, благополучных по инфекционным заболеваниям. Полученных животных размещали в изолированных боксах сроком на одни сутки для адаптации к новым условиям.

От всех животных до начала иммунизации были отобраны пробы крови из краниальной поллой вены с целью определения иммунного фона к возбудителю рожи и ПВИС.

Согласно Нормативному документу № 13-5-2/1062 «Ветеринарные препараты. Показатели качества. Требования и нормы», утвержденному Департаментом ветеринарии Минсельхозпрода Российской Федерации от 17 октября 1997 г. и ГОСТ 28085-89 «Препараты биологические. Метод бактериологического контроля стерильности», вакцину считали иммуногенно активной, если через 42 сутки после вакцинации у вакцинированных подсвинков в сыворотке крови уровень антител к роже имел положительное значение в ИФА ($\text{ОП} \geq 300$), а уровень антител к ПВИС в РТГА – значения не менее 1:512.

Определение безвредности и реактогенности экспериментальных образцов вакцины против рожи и ПВИС

Безвредность и реактогенность экспериментальных образцов вакцины оценивали согласно ГОСТ 31926-2013 на смешанной пробе, приготовленной из 3 флаконов с препаратом.

На каждый образец экспериментальной вакцины было выделено по 6 голов (5 опытных и 1 контрольная). Опытные и контрольная группы в свою очередь были разделены на 2 подгруппы: А – 3 головы для исследования безвредности, Б – 2 головы для исследования реактогенности. Восприимчивых животных для оценки безвредности прививали в двукратной дозе, что составило 4 см³ препарата, а для оценки реактогенности животных иммунизировали в терапевтической дозе 2,0 см³ препарата, внутримышечно в область верхней трети шеи. Образцы вакцины считали безвредными, если лабораторные и восприимчивые животные в течение 28 суток оставались живы и были клинически здоровыми, без каких-либо патологических изменений. Образцы вакцины считали ареактогенными, если все животные в течение 28 суток оставались живы и были клинически здоровыми, а в месте введения препарата отсутствовали патологоанатомические изменения.

Изучение иммуногенного действия экспериментальной вакцины против рожи и ПВИС на поголовье свиней в условиях свиного комплекса

Экспериментальную эмульсионную вакцину против рожи и парвовирусной инфекции свиней проверяли на свиногом комплексе 2-го и 3-го компартментов, неблагополучных по данным инфекционным заболеваниям.

Анализ серологических исследований, интерпретация уровня специфических антител

Сыворотки крови на наличие специфических антител к роже исследовали методом ИФА с использованием коммерческого набора «INGEZIM MAL ROJO Prod Ref: MR. K1» (Spain).

Положительным уровень антител в ИФА считали при оптической плотности (ОП) больше отрицательного контроля на 0,200.

Отрицательным уровень антител в ИФА считали при ОП больше отрицательного контроля на 0,100.

Сыворотки крови на наличие специфических антител к вирусу ПВИС исследовали методом РТГА с использованием коммерческого набора для серодиагностики парвовирусной инфекции свиней в реакции торможения гемагглютинации (производства ФГБУ «ВНИИЗЖ»).

Критерием положительного значения иммунного ответа считали показатель РТГА $\geq 8,0 \log_2$.

Критерием отрицательного значения иммунного ответа считали показатель РТГА $< 8,0 \log_2$.

Определение протективных свойств вакцин по результатам контрольного заражения свиней после иммунизации.

В исследовании использовали серонегативных по отношению к возбудителю рожи свиней и вирусу ПВИС поросят двухмесячного возраста массой 15 - 20 кг в количестве 15 голов.

От всех животных до начала иммунизации были отобраны пробы крови с целью определения иммунного фона к возбудителю рожи свиней и ПВИС.

Вакцину вводили двукратно с интервалом 21 день в объеме 2,0 см³, внутримышечно в область верхней трети шеи. На 42-е сутки после иммунизации животные подвергались контрольному заражению внутрикожно бактериальной суспензией *E. rhusiopathiae* штамма «БД-23» в количестве 51 КОЕ/мл.

За животными вели наблюдение с регистрацией их физиологического состояния.

Протективные свойства вакцины оценивали руководствовались методическими подходами, описанными (Курман И.Я. 2001; Потехин А.В. 2001), определение положительного уровня антител в ИФА (ОП $\geq 0,3$) к возбудителю

рожи и результаты контрольного заражения после иммунизации свидетельствуют о протективном действии препарата, если у 80% из группы вакцинированных свиней не наблюдали проявления клинических признаков болезни в виде повышенной температуры, угнетения или крапивницы.

Статистическая обработка результатов

Для статистической обработки результатов исследований использовали методы И.П. Ашмарина и соавт. [6].

Формула для вычисления среднего арифметического (использовалась как формула для исчисления средней величины) — сумма всех значений, деленная на их количество:

$$X = \Sigma x_i / n, [3], \text{ где}$$

Σx_i — сумма всех значений;

n — общее число значений.

Стандартное отклонение (среднеквадратичное) для более чем 30 наблюдений вычисляли по формуле:

$$\delta = \sqrt{\Sigma d^2 / n}, [4],$$

а стандартное отклонение для менее чем 30 наблюдений вычисляли по формуле:

$$\delta = \sqrt{\Sigma d^2 / n - 1} [5], \text{ где}$$

δ — стандартное отклонение;

d — погрешность (вычисляли как разность между каждым значением и средним арифметическим);

n — общее число значений.

Среднюю ошибку вычисляли по формуле:

$$m = \pm \delta \sqrt{n}, [6], \text{ где:}$$

m — средняя ошибка для средней арифметической;

n — общее число значений.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Изучение биологических свойств изолятов рожи свиней и определение антигенного состава вакцин

Первым этапом нашей работы было получение изолятов возбудителя рожи свиней. С этой целью из свиного хозяйств, расположенных на территории Российской Федерации отбирали патологический материал — эндокард сердца свиньи.

В результате этой работы было исследовано 76 образцов патматериала, из которых 13 проб были положительными.

Полученные изоляты идентифицировали по морфологическим, биохимическим, протеомическим и молекулярно-генетическим признакам.

Морфологические свойства клеток микроорганизма возбудителя рожи определяли микроскопией мазка окрашенного по Граму. По результатам анализа установлена характерная для возбудителя форма грамположительных мелких прямых палочек размером $0,2-0,3 \times 0,5-1,5$ мкм, которые в мазках располагались преимущественно одиночно, парами или в виде коротких цепочек (рисунок 1).

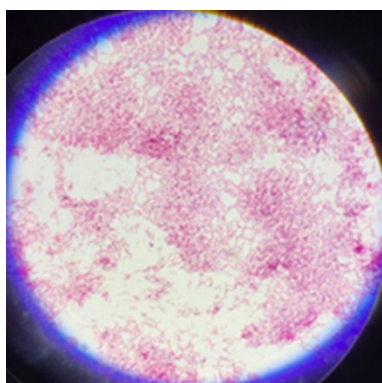


Рисунок 1. Морфология клеток бактерий *E. rhusiopathiae* при окрашивании по Граму, увеличение 100 х

Биохимические свойства изолятов определяли с использованием коммерческого набора для определения коринеформных бактерий API Coryne фирмы BioMérieux (Франция).

Изоляты проявляют характерные для бактерий вида *E. rhusiopathiae*, в соответствии с определителем Берджи [37], следующие биохимические свойства:

- образование кислоты из глюкозы, галактозы, лактозы;
- отсутствие образования кислоты из сахарозы, маннита, салицина;
- образование сероводорода;
- не образуют индол;
- не разжижают желатин.

При испытании бактериальных суспензий изолятов, полученных из положительных проб патматериала, были получены следующие результаты:

13 проб были проверены в API Coryne; в результате анализа полученных данных 2 изолята были идентифицированы как представители вида *E. rhusiopathiae*.

Гемолитические свойства проверяли у изолятов, принадлежность которых к виду *E. rhusiopathiae* была подтверждена по биохимическим свойствам. При росте на кровяном сердечно-мозговом агаре изоляты росли в виде мелких прозрачных колоний в S-форме; окруженных узкой зоной α -гемолиза, что соответствовало свойствам типового штамма *E. rhusiopathiae*.

Протеомические свойства изолятов *E. rhusiopathiae* определяли методом времяпролётной масс-спектрометрии с применением MALDI-TOF, на масс-спектрометре MALDI AutoFlex ms2000 (Autobio Diagnostics Co., China), что представлено на рисунке 2

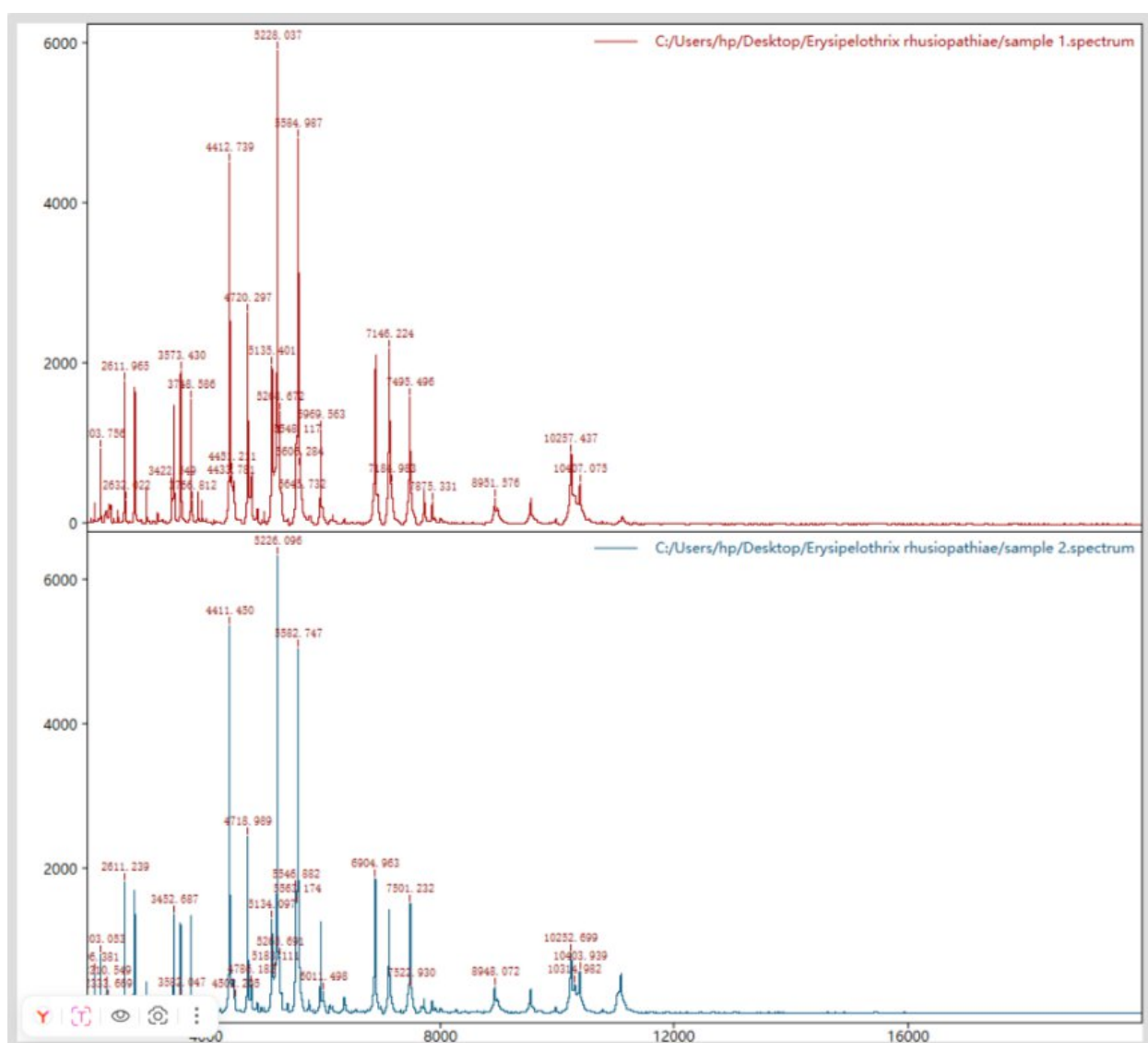


Рисунок 2. Спектрометрия штаммов «БД-23» и «М-2» бактерий *E. rhusiopathiae*

В ходе анализа полученных спектров изолятов было установлено, что все они находятся в диапазоне m/z 2159-10236 Da, при этом пики с наибольшей интенсивностью находились в области от 3500 до 9700 Da. Количество пиков, которые наблюдали при анализе масс-спектров отдельных изолятов, находилось в пределах от 24 до 58, что подтвердило принадлежность исследуемых бактерий к виду *E. rhusiopathiae*. Коэффициент точности исследования от 9,0 Da до 9,72 Da, что свидетельствует о высокой достоверности идентификации.

По результатам полногеномного секвенирования было показано, что штамм *E. rhusiopathiae* «БД-23» формирует отдельную генетическую линию среди

анализируемых штаммов и изолятов, выделенных от свиней и других видов ЖИВОТНЫХ.

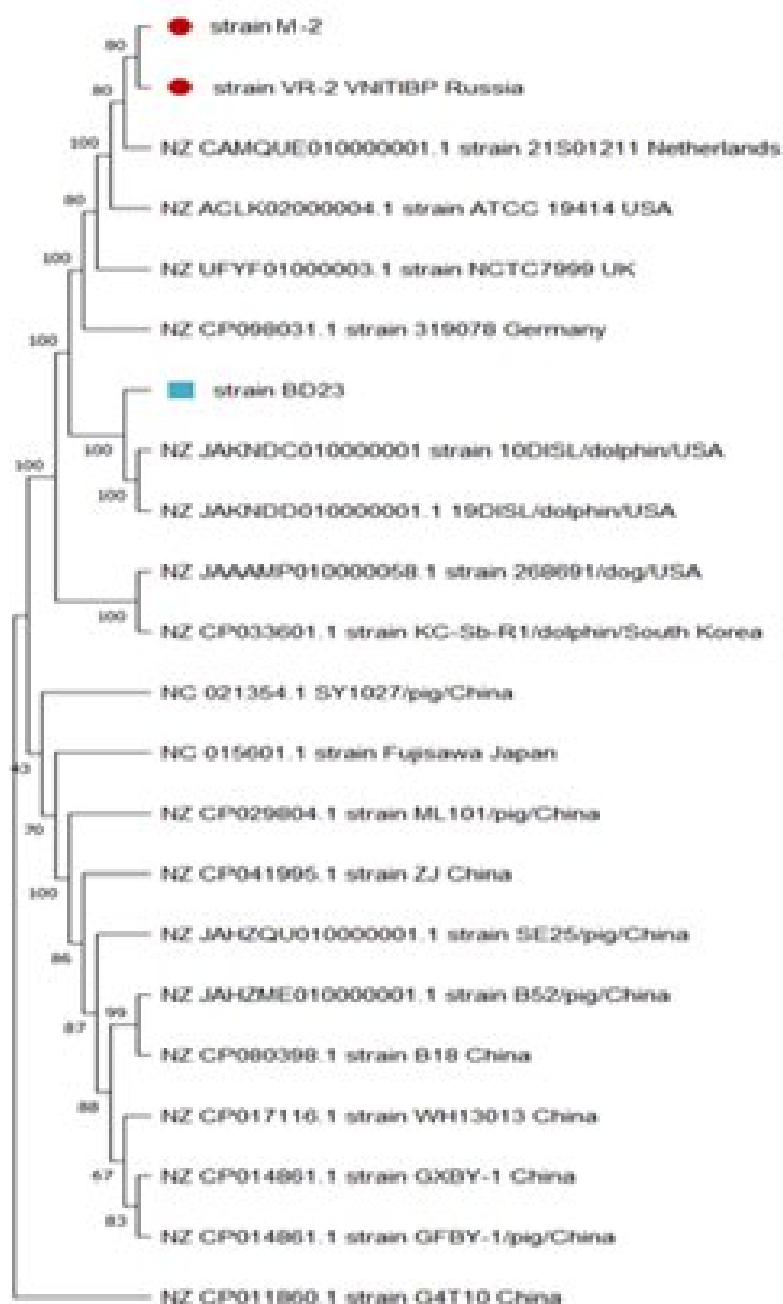


Рисунок 3. Филогенетическое родство референтных штаммов и изолятов *E. rhusiopathiae*.

Представленное на рисунке 3 филогенетическое родство референтных штаммов и изолятов *E. rhusiopathiae* было определено на основе коровых генов из базы данных GenBank. Длина анализируемого участка генома составляет 642 тыс. п. н. (675 коровых генов из 3921 общего гена *E. rhusiopathiae*).

В связи с отсутствием коммерческих наборов преципитирующих сывороток для определения серовариантной принадлежности возбудителей рожи свиней использовали информацию из научных работ о свойствах штаммов с известной серовариантной принадлежностью. На основании анализа данных литературы и результатов собственных исследований по оценке иммунного ответа на антигены изолятов был сделан вывод о том, что полученные изоляты *E. rhusiopathiae* относятся к сероварианту 2, серотипу β .

Изучив свойства изолята возбудителя рожи свиней он был депонирован во Всероссийскую государственную коллекцию экзотических типов вируса ящура и других патогенов животных ФГБУ «ВНИИЗЖ» (ГКШМ ФГБУ «ВНИИЗЖ») под регистрационным номером: № 703- ГКШМ ФГБУ «ВНИИЗЖ» как «Штамм *Erysipelothrix rhusiopathiae* БД-23» (Приложение 1).

В связи с тем, что новый штамм «БД-23» *E. rhusiopathiae* серологически отличается от известных производственных штаммов в состав разрабатываемых вакцин был включён модифицированный штамм *E. rhusiopathiae* «М-2», который задепонирован в ГКШМ ФГБУ «ВНИИЗЖ» как производственно-контрольный (Приложение 2).

На основании полученных данных нами были разработаны два стандарта «Штамм бактерии *Erysipelothrix rhusiopathiae* БД-23» производственно-контрольный. Методы изготовления и контроля посевных материалов» и «Штамм “М-2” *Erysipelothrix rhusiopathiae*. Методы изготовления и контроля посевных материалов» (Приложения 3, 4)

3.2 Определение оптимального состава питательной среды для культивирования *E. Rhusiopathiae*

Для культивирования бактерий, определения их биохимических свойств, контроля стерильности инактивированных антигенов и вакцин использовали следующие питательные среды: мясо-пептонный бульон, мясо-пептонный агар, бульон на основе мясного перевара по Хоттингеру, агар на основе мясного

перевара по Хоттингеру, соево-казеиновый бульон, соево-казеиновый агар, сердечно-мозговой бульон, агар на основе сердечно-мозгового бульона. pH питательных сред был в пределах 6,8 - 7,2.

По данным литературных источников [10, 21], ростостимулирующей добавкой для культивирования бактерий рода *Erysipelothrix* считается нормальная сыворотка лошади для культивирования микроорганизмов стерильная в процентном содержании до 10% от объёма. Подбор процентного содержания сыворотки лошади в питательной среде происходил совместно с опытом по подбору питательных сред. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Основные параметры роста штаммов *E.rhusiopathiae* «БД-23» и «М-2»

Параметры роста	Питательная среда			
	СМБ	СКБ	ТГХ	МПБ
Лаг-фаза, ч.	0,45±0,1	0,7±0,1	0,65±0,1	0,5±0,1
Стационарная фаза, ч.	22	20	18	24
X ₀ , lg КОЕ/см ³	4,7±0,2	4,7±0,2	4,9±0,2	4,97±0,2
X, lg КОЕ/см ³	10±0,2	8,25±0,2	7,76±0,2	6,8±0,2

Примечание: Лаг-фаза – продолжительность лаг-фазы,
Стационарная фаза – время выхода культуры на стационарную фазу,
X₀ – начальная концентрация живых микробных клеток,
X – максимальная концентрация живых микробных клеток.

В результате проведенных исследований установлено, что все питательные среды обеспечивали процесс роста бактерий *E.rhusiopathiae*. В то же время полученные данные указывают на то, что питательная среда на основе сердечно-мозгового бульона является наиболее перспективной для производства бактериальной массы *E. rhusiopathiae*.

На следующем этапе исследований изучали влияние процентного содержания сыворотки крови лошади в среде культивирования на основе сердечно-мозгового бульона на рост бактерий *E. rhusiopathiae*. Сыворотку крови лошади вносили в колбы с СМБ в количестве 5%, 10% и 15% от общего объема среды.

Контролем служила питательная среда без добавления указанного компонента. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Зависимость динамики роста *E. rhusiopathiae* от процентного содержания сыворотки крови лошади

(n=3)

Параметры роста	Содержание сыворотки крови лошади в питательной среде, %			
	0	5	10	15
Экспоненциальная фаза, ч.	8±1	24±1	14±1	10±1
Стационарная фаза, ч.	12	28	22	20
X ₀ , lg КОЕ/см ³	4,62±0,2	4,73±0,2	4,69±0,2	4,82±0,2
X, lg КОЕ/см ³	5,62±0,2	7,72±0,2	10,05±0,2	10,23±0,2

Примечание: Лаг-фаза – продолжительность лаг-фазы,
Стационарная фаза – время выхода культуры на стационарную фазу,
X₀ – начальная концентрация живых микробных клеток,
X – максимальная концентрация живых микробных клеток.

Таким образом, было определено процентное содержание сыворотки лошади в питательной среде, которое оказывает стимулирующее действие на рост бактерий *E. rhusiopathiae*. Оптимальное содержание данного компонента в среде составляет 10 %.

3.3 Подбор инактиванта и определение основных параметров инаktivации

Целью данного этапа работы был выбор инактиванта для получения биомассы бактерий *E. rhusiopathiae* с использованием трех видов инактивантов: формальдегида, 1-(2-аминоэтил)-азиридина и β -пропиолактона.

Исследование основывалось на литературных данных, по результатам обработки которых было принято выбрать наиболее подходящее средство, соответствующее критериям наименьшего времени инаktivации, полноты инаktivации и доступности инаktivировующего агента.

Полноту инаktivации определяли по показателям стерильности и безвредности для восприимчивых и лабораторных животных.

Для работы применяли:

Формальдегид в виде 40%-ного водного раствора, являющийся примером классического инактиванта для изготовления антигена в отечественных и зарубежных препаратах.

β-пропиолактон - своего рода инновационный перспективный инактивант, учитывая его разрушение в процессе хранения до безопасных составляющих.

1-(2-аминоэтил)-азиридин - димера этиленимин (далее ДЭИ) широко используется в изготовлении противовирусных и бактериальных средств специфической профилактики, может быть рекомендован для производства комбинированных вакцин.

Инактивацию *E. rhusiopathiae* проводили в питательной среде при 37°C в режиме постоянного перемешивания при 180 об/мин с использованием шейкера-инкубатора BioSan ES-20.

При изучении процесса инактивации в бактериальную суспензию объемом 100 см³ вносили 0,1%, 0,2% и 0,4% каждого препарата. Концентрацию живых микробных клеток определяли до инактивации и в течении следующих 24 часов через каждые 120 мин после внесения инактиванта.

Концентрацию микробных клеток в суспензии определяли путем высева последовательных разведений на плотные питательные среды, рассчитывая среднее значение; единицы измерения выражали в КОЕ. Расчет параметров инактивации производили по формуле (1).

Полная инактивация наступает при отсутствии ростовых качеств микроорганизма; исходя из этого, основными параметрами для оценки продолжительности инактивации являются количество живых бактериальных клеток в неинактивированной бактериальной суспензии и время инактивации. На основании полученных значений построили графики, представленные на рисунках 4, 5 и 6, имеющие вид прямых линий, указывающих на экспоненциальность процесса.

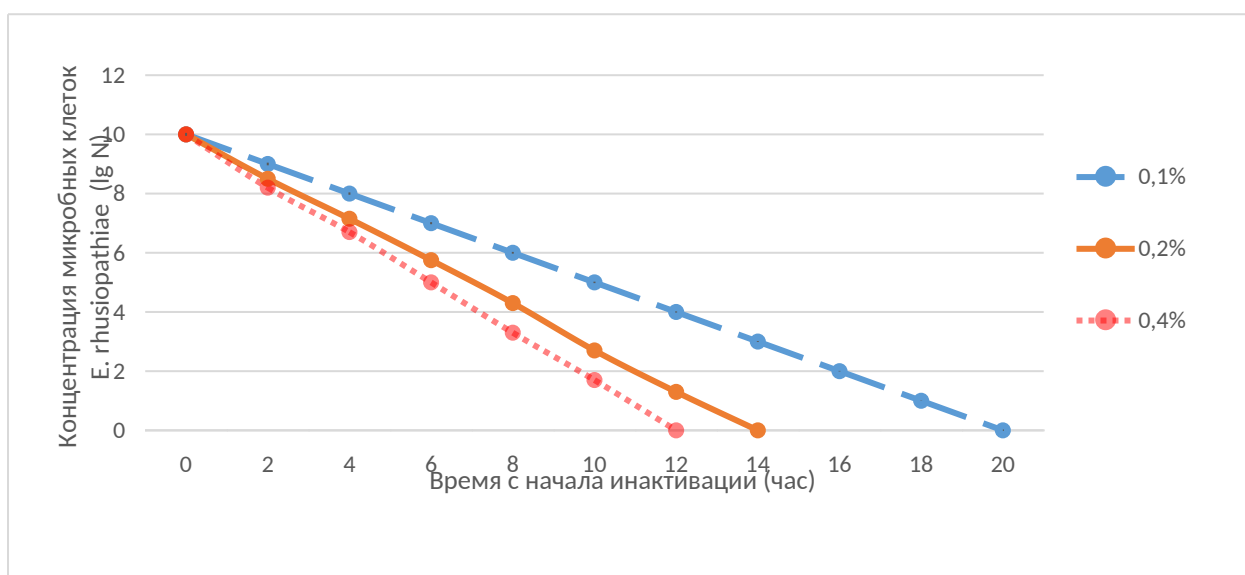


Рисунок 4. Динамика инактивации бактерий *E. Rhusiopathiae* формальдегидом

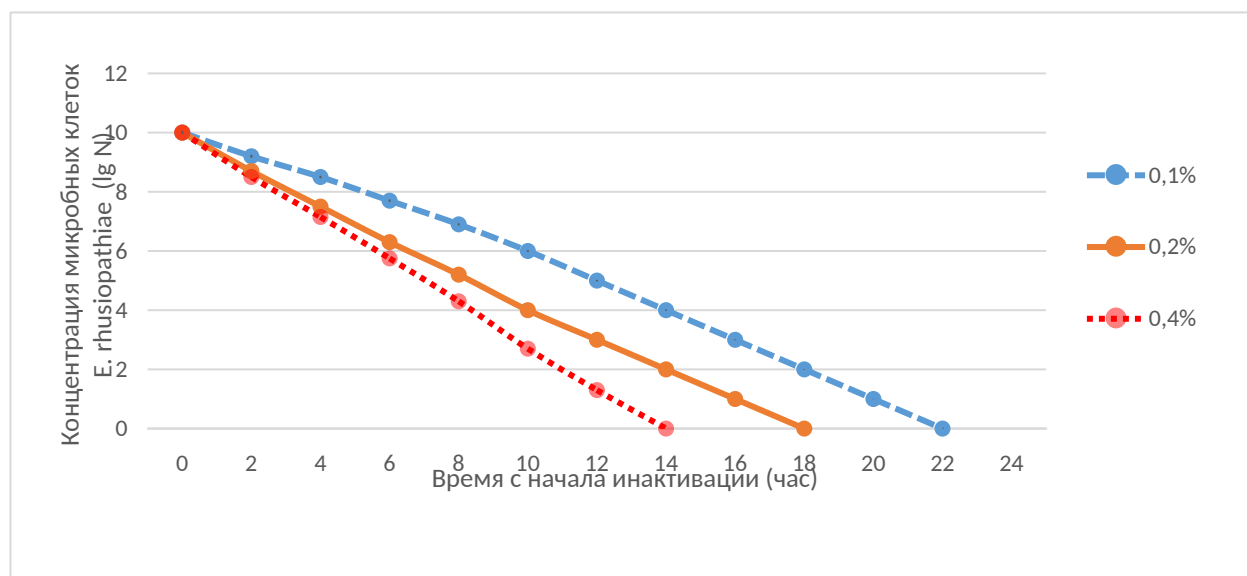


Рисунок 5. Динамика инактивации бактерий *E. Rhusiopathiae* β -пропиолактоном

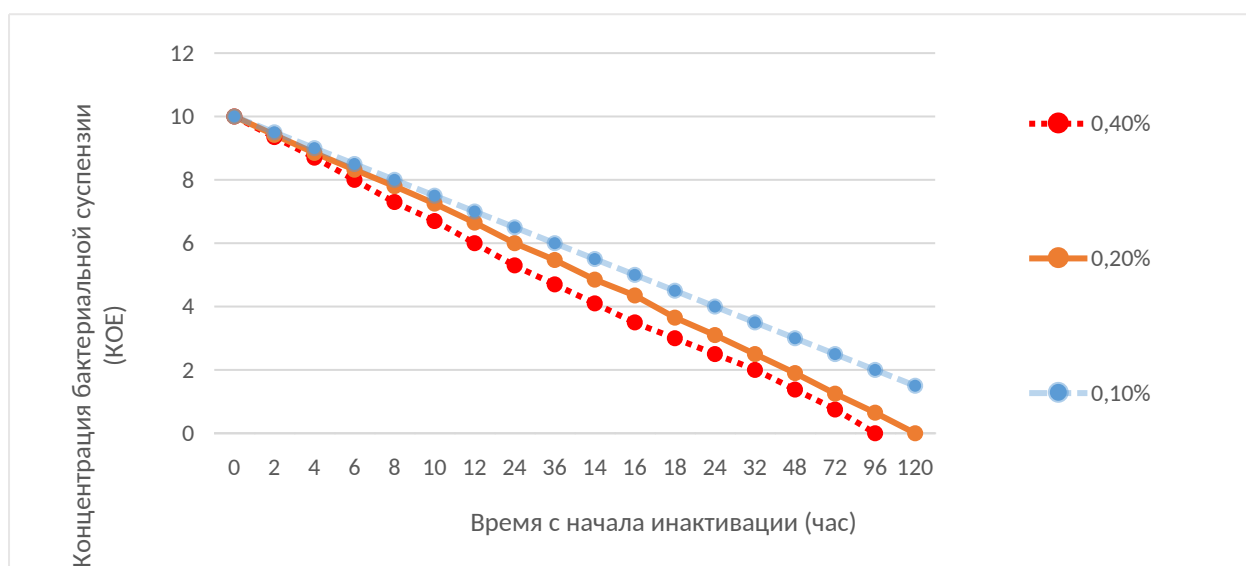


Рисунок 6. Динамика инактивации бактерий *E. rhusiopathiae* ДЭИ

По результатам данного этапа опыта, время, необходимое для полной инактивации бактерий *E. rhusiopathiae*, зависит от процентного содержания различных инактивирующих средств; сравнительные данные кривых инактивации представлены в таблице 3.

Таблица 3 - Параметры инактивации бактерии *E. rhusiopathiae* различными инактивантами

(n=3)

Тип инактиванта и процентное соотношение	Формальдегид			β -пропиолактон			ДЭИ		
	0,1%	0,2%	0,4%	0,1%	0,2%	0,4%	0,1%	0,2%	0,4%
Время полной инактивации	20 час	14 час	12 час	22 час	18 час	14 час	-	4 сут.	5 сут.

Из полученных данных следует, что вещества, использованные для инактивации бактерий *E. rhusiopathiae* обладают различной активностью. Так для формальдегида время полной инактивации составляет: 0,1% - 20ч.; 0,2% - 14ч.; 0,4% - 12ч. При внесении в бульонную культуру β -пропиолактона в концентрациях 0,1%, 0,2%, 0,3% инаktivация наступала через 22, 18 и 14 часов соответственно. При внесении аналогичных концентраций димера инаktivация занимает значительно больше времени: 0,2% - 5 сут., 0,4%- 4 сут.

На основании полученных данных можно сделать вывод, что использование ДЭИ не является целесообразным в связи с продолжительным временем инактивации, однако показатели при использовании формальдегида и β -пропиолактона подразумевают дальнейшее исследование свойств полученных антигенов.

Определение антигенной активности методом ИФА. В исследовании принимали участие восприимчивые животные (откармливаемое поголовье) в количестве 30 голов, по 10 в каждой группе, включая контрольную. Животных инъецировали антигенами рожи свиней в объеме 2 см³ и концентрации 1×10^{10} микробных клеток в миллилитре, полученные при использовании формальдегида и β -пропиолактона в концентрации 0,2%. Наблюдение за животными проводили в течении 21 дня, отбор проб сывороток крови осуществляли спустя 21 день после инъекции. Результаты представлены в таблице 4.

Таблица 4 - Активность инактивированных антигенов рожи

(n=3)

Номер животного	Уровень антител (значения ОП в ИФА)		
	Формальдегид	β -пропиолактон	Контроль
1	0,295±0,004	0,142±0,004	0,122±0,004
2	0,300±0,003	0,153±0,003	0,131±0,002
3	0,295±0,002	0,144±0,002	0,110±0,002
4	0,296±0,002	0,162±0,004	0,113±0,003
5	0,300±0,003	0,141±0,002	0,125±0,004
6	0,302±0,003	0,137±0,003	0,109±0,004
7	0,305±0,004	0,160±0,003	0,121±0,002
8	0,305±0,003	0,148±0,002	0,119±0,002
9	0,308±0,004	0,151±0,003	0,130±0,003
10	0,304±0,002	0,147±0,003	0,123±0,003
Среднее значение по группе	0,301±0,001	0,148±0,002	0,120±0,002
Положительных результатов, %	70 %	0	0

Примечание: Значение ИФА: ОП $\geq 0,3$ – наличие специфических антител к возбудителю рожи свиней.

Таким образом, данные из таблицы 4 позволяют оценить антигенную активность по результатам ИФА и подвести итог данного опыта. Процент положительных значений по группе, инъецированной антигеном, инаktivированным β -пропиолактоном, составил 0%; в свою очередь, группа, инъецированная антигеном, инаktivированным формальдегидом, индуцировала 50% положительных значений ИФА, что подтверждает дальнейшее использование формалина в качестве инаktivанта в связи с уровнем антител, достигающих значений положительного контроля. Анализ полученных данных процесса инаktivации позволил заключить, что выбор инаktivанта для производства бактериального антигена обусловлен не только временем, необходимым для инаktivации (24 ч. при $t=37\pm0,5$ °C и концентрации инаktivанта 0,2%), но и различием антигенной активности в пользу дальнейшего использования формальдегида в различных концентрациях.

3.4. Изготовление лабораторного образца экспериментальной вакцины

Одним из показателей качества вакцин против рожи и парвовирусной инфекции свиней является их безвредность. Учитывая множество факторов, таких как болезненность в месте введения, простота применения, условия транспортировки и стабильность препарата, для изготовления опытных образцов вакцин использовали 5 коммерческих адъювантов производства Франции, фирмы Montanide, в том числе: IMS 1313, IMS 2215, ISA 70, ISA 28R, ISA 201, обладающих разными физико-химическими свойствами, в том числе различной степенью лиофильности, лиофобности, вязкости и процентным содержанием эмульгатора. Два из 5-ти адъювантов, Montanide IMS 1313 и Montanide IMS 2215, поставляют в виде готовой микроэмульсии, эмульгирование которой происходит путем простого смешивания антигенов с адъювантом. Процентные соотношения адъюванта и антигена использовались согласно рекомендуемому содержанию компонентов в вакцине, которые представлены в таблице 5.

Таблица 5 - Состав образцов экспериментальных вакцин против рожи свиней и рожи и ПВИС

Вакцина	№ Об-ца	Тип адъюванта	% Компонентного соотношения				
			Адъювант	Антиген общий	Рож		ПВИС
					«БД-23»	«М-2»	«ВЛ-94»
«ЭриПВИС»	1	IMS 1313	50	50	12,5	12,5	25
	2	IMS 2215	25	75	17,5	17,5	40
	3	ISA 28R	15	85	20	20	45
	4	ISA 201	50	50	13,75	13,75	22,5
	5	ISA 70	70	30	7,5	7,5	15
«ЭризеВак»	6	IMS 1313	50	50	25	25	-
	7	IMS 2215	25	75	37,5	37,5	-
	8	ISA 28R	15	85	42,5	42,5	-
	9	ISA 201	50	50	25	25	-
	10	ISA 70	70	30	15	15	-

Экспериментальные образцы инаktivированных вакцин против рожи и парвовирусной инфекции свиней были изготовлены из антигенов, полученных из штаммов рожи свиней «*E. rhusiopathiae* БД-23» и «*E. rhusiopathiae* М-2», а также из штамма «ВЛ-94» вируса парвовирусной инфекции свиней.

Концентрация инаktivированных микробных клеток антигена в бактериальной суспензии составила 10^{11} м.к./см³ по стандартному образцу мутности бактериальных взвесей. Инфекционная активность вируса ПВИС составляла не менее 7,5 lg ТЦД₅₀/см³.

В иммунизирующей дозе каждого образца вакцины было заложено 5×10^9 м.к./см³ антигена рожи свиней и антигена парвовируса свиней с гемагглютинирующей активностью не ниже 1:256.

3.5 Контроль экспериментальных образцов разрабатываемых вакцин

В опыте по исследованию реактогенности было задействовано шестьдесят поросят отъёмышей из которых пятьдесят были иммунизированы вакциной с

использованием различных адъювантов в объеме одной терапевтической дозы – 2,0 см³. Ежедневный осмотр животных опытных и контрольной групп показал, что все особи оставались живыми и клинически здоровыми в течение всего периода наблюдения. Угнетения, изменения пищевых привычек, отказа от корма и других отклонений в физиологическом состоянии животных не регистрировали. Температура тела была в пределах нормы, болевая реакция в месте введения препарата отсутствовала. При вскрытии места инъекции спустя 28 сут. патологоанатомических изменений тканей и остатков вакцины не обнаружено, результаты представлены в таблице 6.

Таблица 6 - Показатели реактогенности вакцины с различным составом

Используемый адъювант	Наличие воспалительной реакции в месте инъекции	Наличие остатков вакцины в месте инъекции
IMS 1313	Какие-либо изменения отсутствуют	Не обнаружено
IMS 2215	В месте инъекции наблюдается пролиферативное воспаление	Обнаружены олео-гранулёмы превышающие 1см ³ в объёме пораженной ткани
ISA 28R	В месте инъекции наблюдается пролиферативное воспаление	Обнаружены олео-гранулёмы превышающие 1см ³ в объёме пораженной ткани
ISA 201	В месте инъекции наблюдается пролиферативное воспаление	Обнаружены олео-гранулёмы превышающие 1см ³ в объёме пораженной ткани
ISA 70	Какие-либо изменения отсутствуют	Обнаружены небольшие вкрапления не рассосавшейся вакцины на месте введения

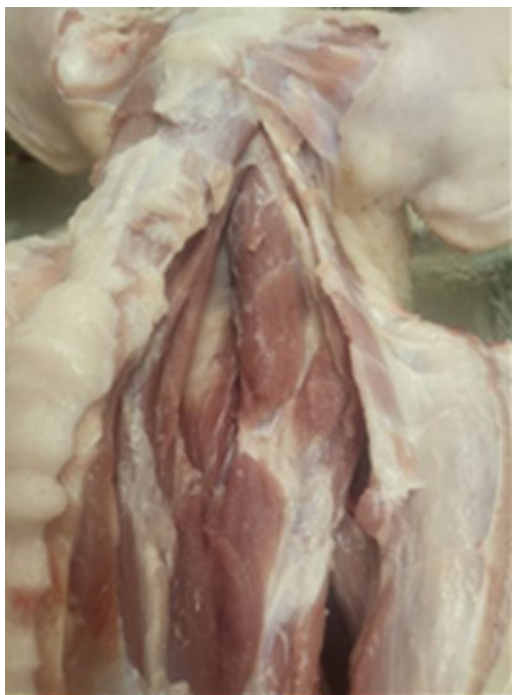


Рисунок 7. Место внутримышечной инъекции вакцины изготовленной на основе адъюванта Montanide IMS 1313

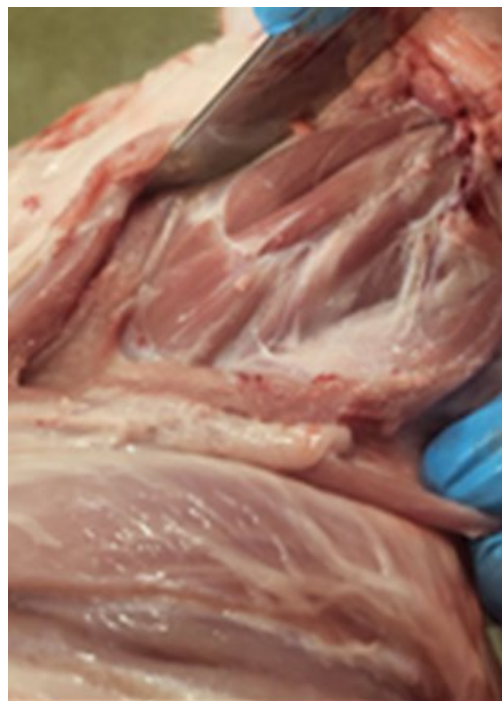


Рисунок 8. Влияние адъюванта Montanide IMS 2215 на средние и глубокие слои мышечной ткани



Рисунок 9. Поражение поствакцинальной гранулёмой глубоких слоев мышечной ткани в месте инъекции образца вакцины на основе адъюванта Montanide ISA 28R

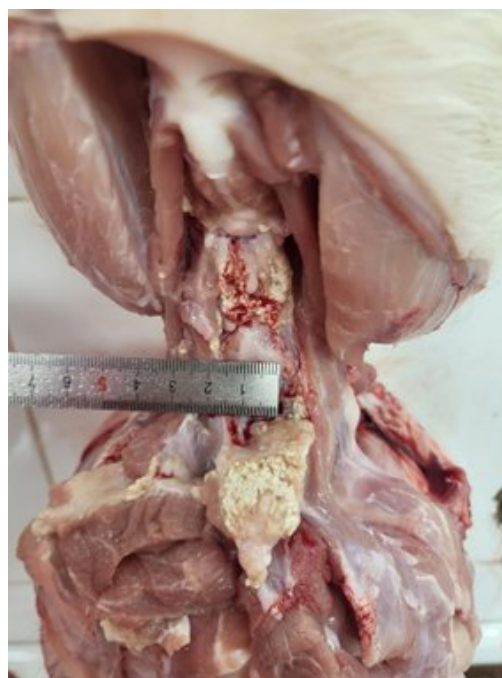


Рисунок 10. Стерильный абсцесс в месте инъекции образца вакцины на основе адъюванта Montanide ISA 201



Рисунок 11. Незначительные вкрапления не рассосавшейся вакцины в глубоких слоях мышечной ткани в месте инъекции образца вакцины на основе адъюванта Montanide ISA 70

По результатам проведенных исследований сделано заключение, что вакцина против рожи свиней, как и вакцина против рожи и парвовирусной инфекции свиней инактивированная эмульсионная, изготовленные на основе адъюванта Montanide IMS 1313, не вызывали патологических изменений в месте инъекции препарата, что доказывает ареактогенность вакцин для восприимчивых животных.

Для оценки безвредности экспериментальных серий препарата было задействовано пятьдесят поросят отъемышей, из которых сорок были иммунизированы вакцинами с использованием различных адъювантов в двукратном объеме – $4,0 \text{ см}^3$, и десять голов служили контролем.

Результаты исследования безвредности экспериментальных серий инактивированной эмульсионной вакцины против рожи и парвовирусной инфекции свиней на поросятах представлены в таблице 7.

Таблица 7 - Оценка безвредности экспериментальных серий инактивированных эмульсионных вакцин против рожи и парвовирусной инфекции свиней на поросятах

Адьювант	Поствакцинальные осложнения	Количество случаев соответственно суткам наблюдения						
		1-4	5-8	9-12	13-16	17-20	21-24	25-28
IMS 1313	Угнетенное состояние животных	0	0	0	0	0	0	0
	Снижение аппетита, отказ от корма	0	0	0	0	0	0	0
	Местная реакция в области инъекции (гиперемия, уплотнение ткани)	0	0	0	0	0	0	0
IMS 2215	Угнетенное состояние животных	0	0	0	0	1	1	1
	Снижение аппетита, отказ от корма	0	0	0	1	1	1	1
	Местная реакция в области инъекции (гиперемия, уплотнение ткани)	0	0	1	1	2	3	3
ISA 28R	Угнетенное состояние животных	0	0	0	0	2	2	3
	Снижение аппетита, отказ от корма	0	0	0	0	0	1	1
	Местная реакция в области инъекции (гиперемия, уплотнение ткани)	6	6	6	8	8	8	10
ISA 201	Угнетенное состояние животных	1	1	2	2	4	4	6
	Снижение аппетита, отказ от корма	0	0	1	1	2	3	8
	Местная реакция в области инъекции (гиперемия, уплотнение ткани)	2	3	5	5	6	6	10
ISA 70	Угнетенное состояние животных	0	0	0	1	1	2	2
	Снижение аппетита, отказ от корма	0	0	0	1	1	1	1
	Местная реакция в области инъекции (гиперемия, уплотнение ткани)	0	0	0	3	3	3	3

За время проведения опыта у животных, привитых вакциной, изготовленной на базе адьюванта Montanide IMS 1313, отклонений в физиологическом состоянии не зафиксировано (угнетение, повышение температуры тела и т. д.), изменения пищевых привычек и/или отказ от корма не наблюдали. Падеж животных отсутствовал. Местная реакция в области инъекции (гиперемия, уплотнение тканей) отсутствовала, что свидетельствует о безвредности для восприимчивых животных (поросят).

Для оценки иммуногенной активности испытуемых препаратов животных вакцинировали в верхнюю треть шеи в объеме 2 см³. Для образцов под № 1, 2, 3, 5 повторную вакцинацию проводили через 21 сутки, исключая образец № 4 в связи с рекомендацией производителя об использовании адьюванта в формате one shoot time.

Ежедневный осмотр показал, что после первой и второй вакцинации у групп животных, привитых вакцинами на основе адьювантов ISA 28R, IMS 2215 и ISA 201, наблюдали общее угнетение физического состояния, в том числе воспаление в области инъекции препарата, повышение общей температуры тела и снижение аппетита, однако группы животных, привитых образцами, сделанными на основе адьювантов IMS 1313 и ISA 70, оставались клинически здоровыми, и физиологическое состояние в течение срока исследования оставалось в пределах нормы. Какого-либо угнетения, изменения пищевых привычек и клинических отклонений не наблюдали.

Результаты исследования сывороток крови свиней, полученных от животных, используемых в опыте для изучения иммуногенной активности после иммунизации вакциной против рожи и ПВИС, а также контрольной группы, представлены на рисунках 12 и 13.

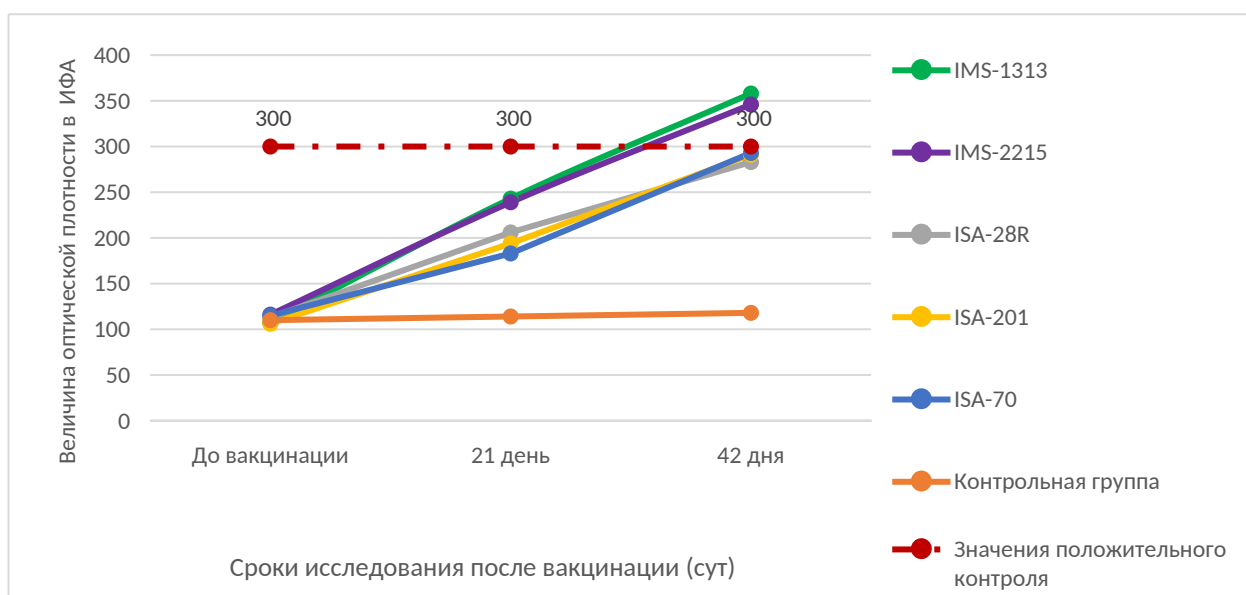


Рисунок 12. Динамика накопления антител к роже свиней при применении экспериментальных образцов моно и ассоциированных вакцин.

Примечание: Значение ИФА: оп $\geq 0,3$ – наличие специфических антител.

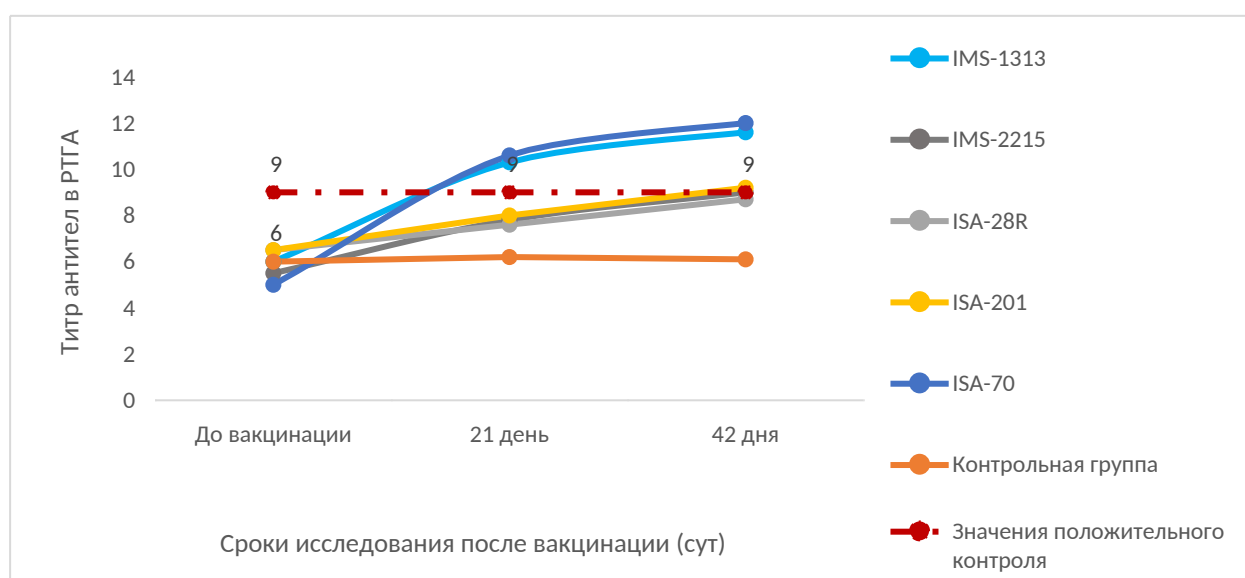


Рисунок 13. Динамика образования антител к ПВИС у животных привитых экспериментальными образцами вакцины.

Примечание: Значение РТГА для ПВИС: $\leq 8,0 \log_2$ – наличие специфических антител.

Результаты, представленные на рисунках 12 и 13, подтверждают, что все животные до вакцинации были серонегативны к роже свиней и к вирусу ПВИС.

Через 21 сутки после повторной вакцинации специфические антитела к возбудителю рожи свиней определяли в значениях ИФА, превышающих положительную границу ($ОП \geq 300$) после использования вакцин на основе адъювантов IMS 1313 и IMS 2215; однако при использовании адъювантов серии ISA уровень специфических антител не достиг необходимых значений, (показателем, удовлетворяющим условия эксперимента, считали $ОП \geq 300$).

В РТГА через 21 сутки после повторной вакцинации зарегистрирована положительная динамика накопления специфических антител к ПВИС при использовании вакцин на основе адъювантов IMS 1313 и ISA 70; в свою очередь, образцы на основе IMS 2215, ISA 28R и ISA 201 не обеспечивали образование специфических антител, превышающих границу положительного контроля реакции ($\leq 8,0 \log_2$).

В соответствии с проведенными исследованиями можно сделать вывод, что инаktivированные эмульсионные вакцины против рожи, а также против рожи и ПВИС, в составе которых использовали адъювант микроэмульсии Montanide IMS 1313, вызывали формирование иммунного ответа через 21 сутки после повторной вакцинации как к возбудителю рожи свиней, так и к вирусу парвовирусной инфекции свиней на достаточно высоком уровне, не вызывали

3.6 Определение иммунизирующей дозы

Исследование оптимальной дозы для иммунизации восприимчивых животных инаktivированной эмульсионной вакциной против рожи свиней «ВНИИЗЖ-ЭризеВак», а также инаktivированной эмульсионной вакциной против рожи и парвовирусной инфекции свиней «ВНИИЗЖ - ЭриПВИС» проводили с использованием серонегативных по отношению к возбудителю рожи свиней и вирусу ПВИС ремонтных свинок массой 40 - 45 кг в количестве 35 голов, доставленных из специализированных питомников, благополучных по инфекционным заболеваниям.

В сыворотках крови, полученных в заданные сроки, определяли концентрацию (титр) антител к возбудителю рожи свиней и вирусу ПВИС. Для оценки иммунизирующей дозы разрабатываемые препараты вводили внутримышечно в область верхней трети шеи в прививном объеме 1,0 см³/гол (первой и второй группам животных), 2,0 см³/гол (третьей и четвертой группам) и 4,0 см³/гол (пятой и шестой группам); количество антигена в 1 мл составляло не менее 5×10^9 инаktivированных микробных клеток возбудителя рожи свиней и антигена ПВИС с гемагглютинирующей активностью не ниже 1:256. Группа № 7 на протяжении всего эксперимента была интактной (контроль).

Отбор проб сыворотки крови проводили до вакцинации и далее с периодичностью в 7 суток до 42-го дня после вакцинации (из краниальной поллой вены).

За животными вели наблюдение с регистрацией физиологического состояния после иммунизации вакцинами «ВНИИЗЖ - ЭризеВак» и «ВНИИЗЖ - ЭриПВИС» в иммунизирующей дозе 1 см³, 2 см³ и 4 см³.

Ежедневный клинический осмотр показал, что все животные после вакцинации оставались клинически здоровыми, и физиологическое состояние в течение срока исследования оставалось в пределах нормы. Какого-либо угнетения, изменения пищевых привычек и клинических отклонений не наблюдали.

По результатам проведенных исследований, основанных на анализе физиологического состояния животных, сделано заключение, что применение вакцин «ВНИИЗЖ - ЭризеВак» и «ВНИИЗЖ - ЭриПВИС» в различных иммунизирующих дозах не вызывало поствакцинальных осложнений.

Исследование по оценке величины оптимальной иммунизирующей дозы проводили при помощи анализа проб сывороток крови, полученных от свиней.

Серодинамику к роже свиней приняли в качестве зависимого параметра относительно временных интервалов после вакцинации (сут.). Соответственно испытанным дозам составили таблицу, где показателем положительного уровня специфических антител считали величину ОП = 0,3. Результаты анализа действия

иммунизирующей дозы вакцины против возбудителя рожи свиней представлены в таблице 8.

Таблица 8 - Динамика образования антител при оценке напряженности поствакцинального гуморального иммунитета у восприимчивых животных
(n=3)

Время отбора	Уровень специфических антител в сыворотках крови свиней инъецированных различными прививными объемами					
	1см ³		2см ³		4см ³	
	Рожа (оп)	ПВИС (log ₂)	Рожа (оп)	ПВИС (log ₂)	Рожа (оп)	ПВИС (log ₂)
До вакцинации	0,134±0,002	5,6±0,1	0,166±0,002	5,4±0,1	0,14±0,002	6,2±0,1
7 дней	0,231±0,002	6,6±0,1	0,25±0,002	6,6±0,2	0,25±0,002	6,6±0,1
14 дней	0,222±0,002	7,4±0,1	0,387±0,003	7,6±0,1	0,39±0,003	7,6±0,2
21 день*	0,245±0,002	7,6±0,2	0,412±0,002	8,4±0,2	0,44±0,002	8,6±0,1
28 день	0,261±0,002	8,4±0,1	0,491±0,003	9,2±0,2	0,53±0,003	9,4±0,1
35 день	0,292±0,002	8,8±0,2	0,573±0,003	10,4±0,1	0,59±0,003	10,6±0,2
42 день	0,292±0,002	9,2±0,1	0,606±0,003	10,6±0,2	0,665±0,003	11,0±0,2

Примечания:

Значение ИФА: ОП ≥ 0,3 – наличие специфических антител к возбудителю рожи свиней;

Значение РТГА: ≥ 8log₂ – наличие специфических антител к вирусу ПВИС;

*- повторная вакцинация.

Из данных, представленных в таблице 8, следует, что интенсивность развития поствакцинальной иммунной реакции животных зависима от прививной дозы.

Полученные данные серодинамики приняли в качестве зависимого параметра относительно временных интервалов после вакцинации (сут). Соответственно испытанным дозам строили графики, где показателем положительного уровня специфических антител считали величину ОП= 0,3. Серодинамика в ИФА (ОП) при применении вакцины в различных иммунизирующих дозах в графическом виде на рисунках 14 - 16.

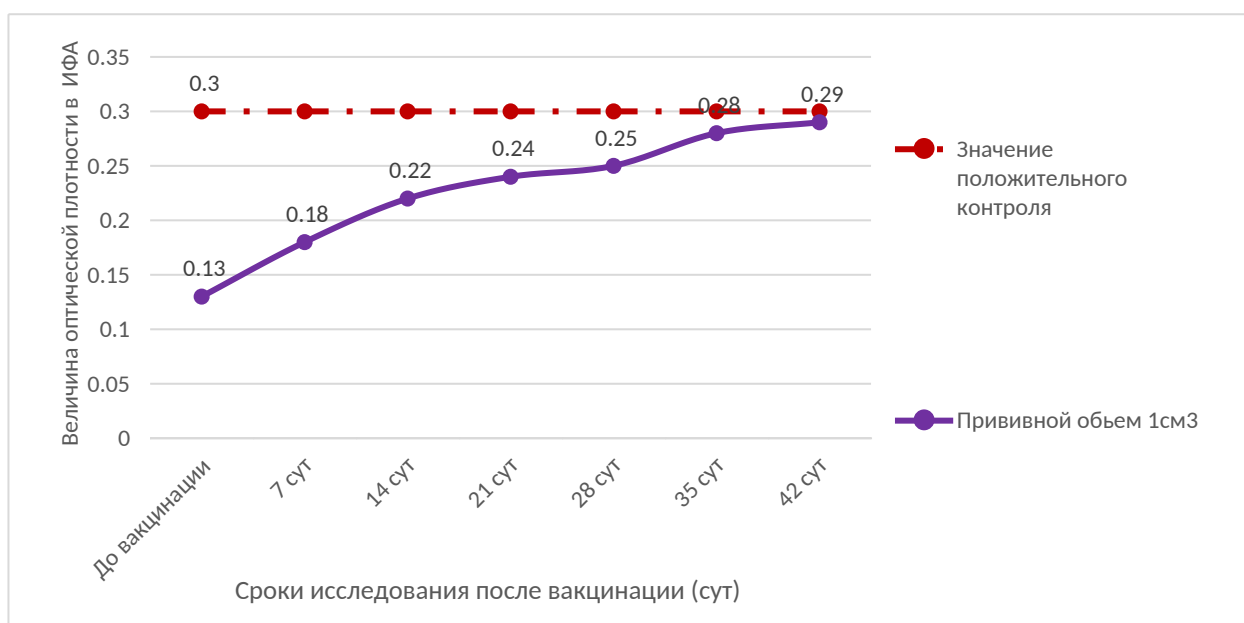


Рисунок 14. Динамика накопления антител к возбудителю рожи свиней (ОП) после иммунизации в прививном объеме 1,0 см³/гол

Результаты, представленные на рисунке 14, свидетельствуют о том, что вакцина в прививном объеме 1 см³ в период первых 14 суток не индуцировала иммунного ответа у привитых свиней; образование специфических антител к возбудителю рожи свиней отмечалось только к 35 суткам, когда выявлялись положительные значения ОП в ИФА.

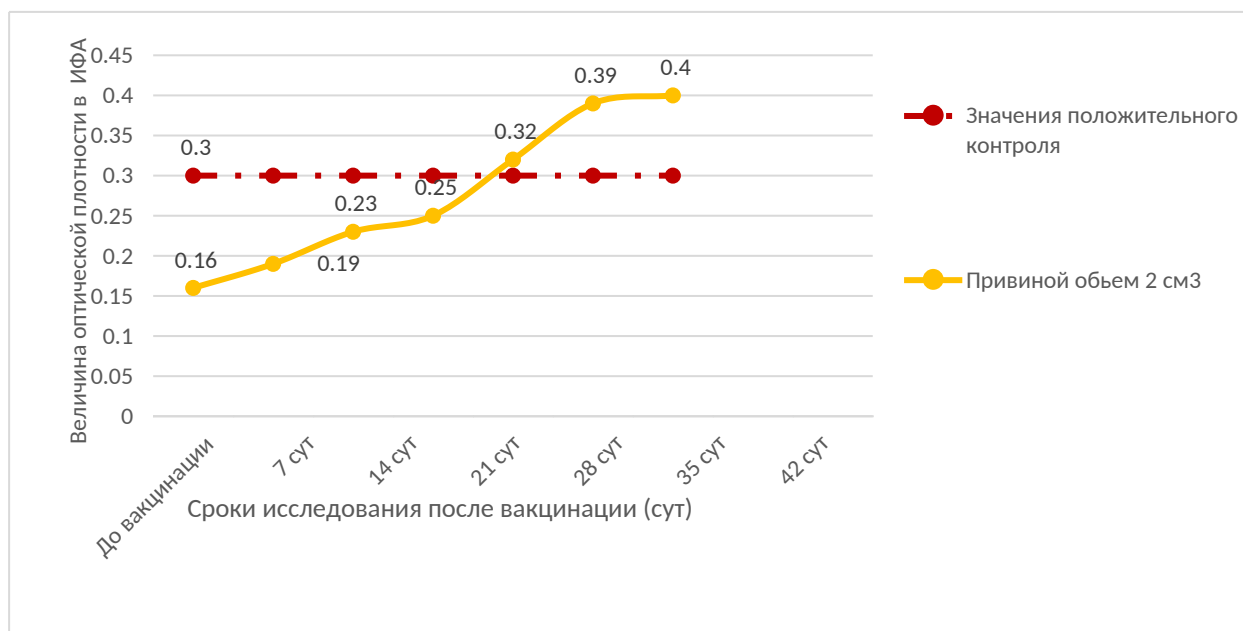


Рисунок 15. Динамика накопления антител к возбудителю рожи свиней (ОП) после иммунизации в прививном объеме 2,0 см³/гол

Анализируя данные рисунка 15, видно, что специфические антитела к возбудителю рожи свиней после вакцинации в прививном объёме $2 \text{ см}^3/\text{гол}$ определяли на 14-е сутки после вакцинации, и они имели положительную динамику к 42-м суткам (срок окончания эксперимента). Через 21 сутки после повторной иммунизации титры антител вдвое превышали уровень исходных фоновых результатов.

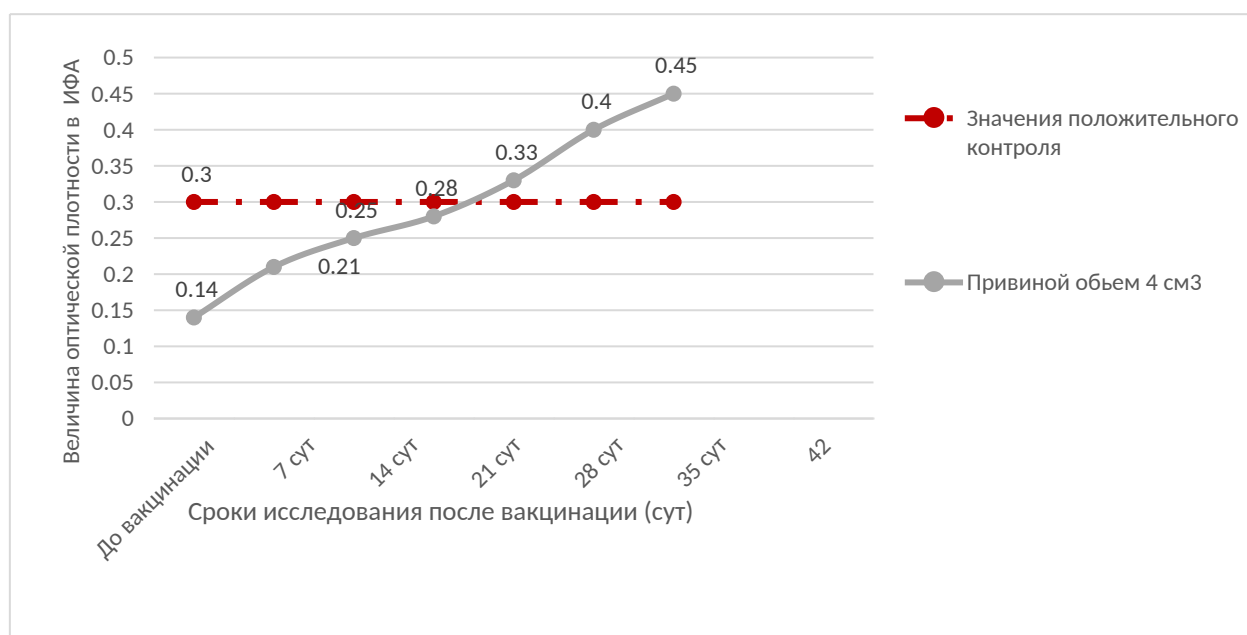


Рисунок 16. Динамика накопления антител к возбудителю рожи свиней (ОП) после иммунизации в прививном объёме $4,0 \text{ см}^3/\text{гол}$

Иммунизация свиней 3-й группы в прививном объёме $4 \text{ см}^3/\text{гол}$ привела к приросту титров антител через 14 суток по сравнению с группой № 2. В группах 2 и 3 наступление напряженного иммунного ответа отмечали на 42-е сутки после вакцинации: титры антител в сыворотках крови свиней этих групп двукратно превышали показатели до вакцинации и у контрольной группы.

Исходя из полученных данных, составили таблицу, где показателем положительного уровня специфических антител считали величину ОП = 0,3. Результаты анализа действия иммунизирующей дозы вакцины против возбудителя рожи свиней представлены в таблице 9.

Таблица 9 - Динамика накопления антител в ИФА (ОП) к возбудителю рожи свиней при использовании различных прививных объёмов

Сутки	Значение ИФА (ОП)			
	1см ³	2см ³	4см ³	Контроль
0	0,13±0,02	0,16±0,02	0,14±0,02	0,14±0,02
7	0,18±0,02	0,19±0,01	0,21±0,02	0,15±0,01
14	0,22±0,03	0,23±0,02	0,25±0,03	0,14±0,02
21	0,24±0,02	0,25±0,02	0,28±0,01	0,14±0,02
28	0,27±0,01	0,32±0,03	0,33±0,02	0,15±0,01
35	0,29±0,02	0,39±0,01	0,40±0,02	0,14±0,02
42	0,30±0,01	0,40±0,01	0,45±0,01	0,15±0,01

Примечание: значение ИФА: ОП $\geq 0,3$ – наличие специфических антител к возбудителю рожи свиней.

Таким образом, в таблице 9 показано, что при инъектировании вакциной в объёме 1 см³ иммунный ответ у привитых свиней на протяжении всего опыта имел слабовыраженную динамику, а образование специфических антител к возбудителю рожи свиней происходило только к 35-м суткам. В свою очередь, после вакцинации прививным объёмом 2 см³ и 4 см³ специфические антитела определяли на 28-е сутки с сохранением положительной динамики. К 42-м суткам значения ИФА в группах 2 и 3 достигли значений, которые двукратно превышали показатели до вакцинации и у контрольной группы.

Результаты определения специфических антител к ПВИС представлены графически: полученные в РТГА оценки $\log_2$ приняли в качестве зависимого параметра относительно временных интервалов после вакцинации (сут.). Соответственно испытанным дозам строили графики, где критериальным показателем считали величину $\log_2 = 8,0$. Результаты анализа действия иммунизирующей дозы вакцины против возбудителя ПВИС представлены на рисунках 17 - 19.

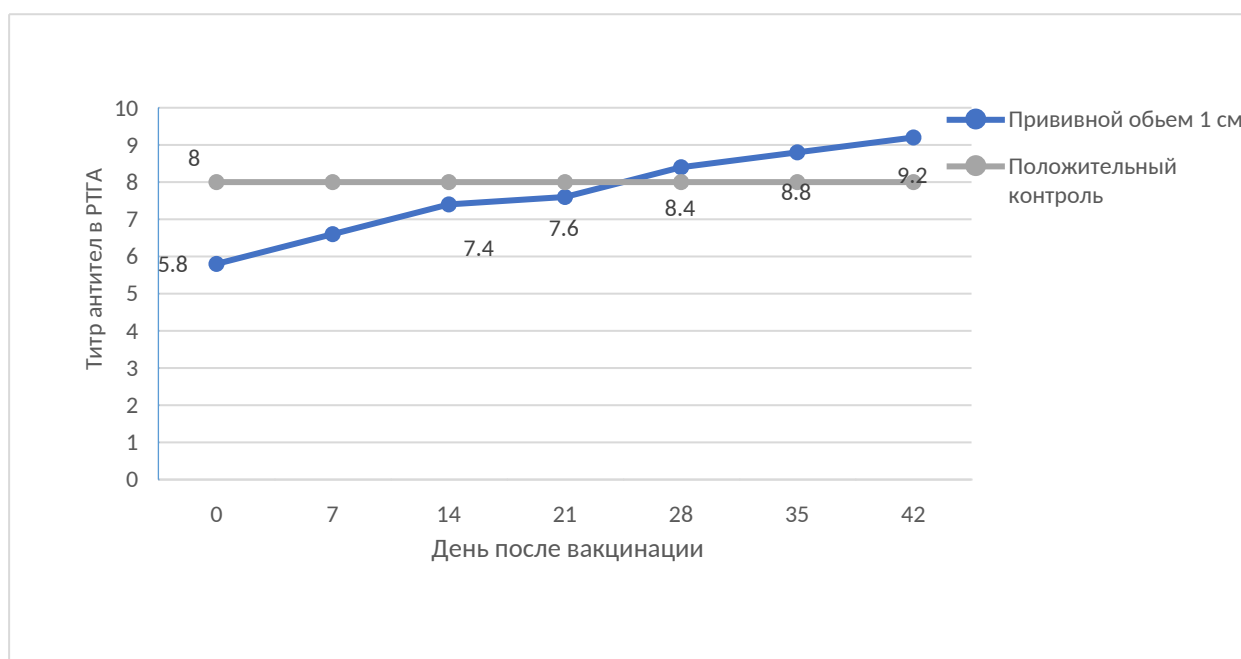


Рисунок 17. Динамика накопления антител к ПВИС (log₂) после иммунизации в прививном объеме 1 см³/гол

Из данных, представленных на рисунке 17, следует вывод что у животных привитых в объеме 1 см³/гол специфические антитела к ПВИС выявляли к 28 суткам и к 42 суткам имели незначительную положительную динамику.

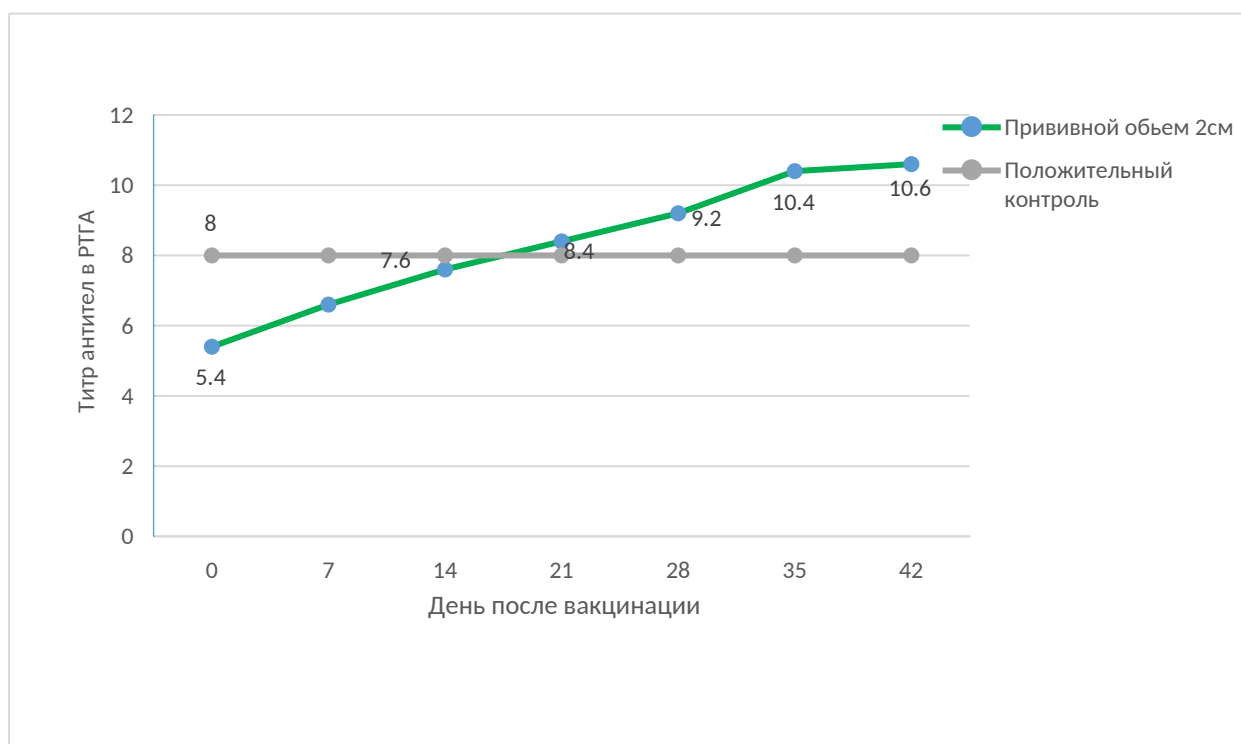


Рисунок 18. Динамика накопления антител к ПВИС (log₂) после иммунизации в прививном объеме 2,0 см³/гол

Анализируя данные рисунка 18, специфические антитела к ПВИС после вакцинации животных в прививном объёме $2 \text{ см}^3/\text{гол}$ определяли на 21 сутки после вакцинации и имели положительную динамику к 42 суткам (срок окончания эксперимента).

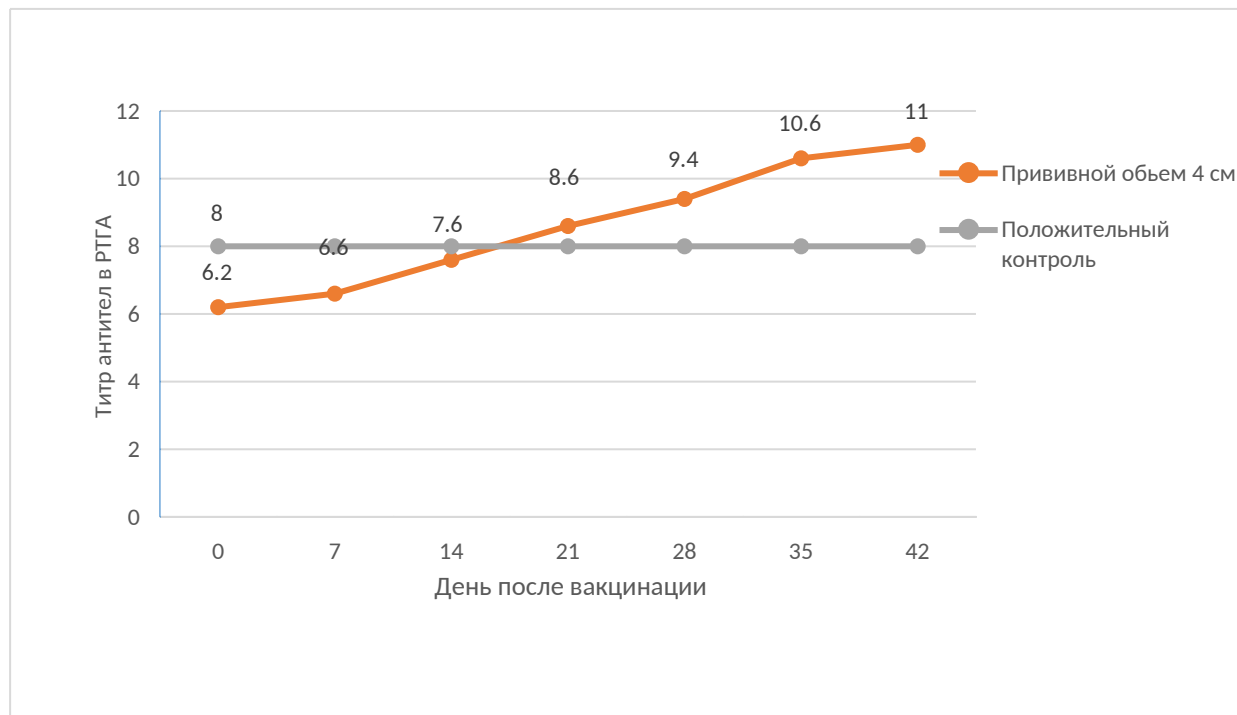


Рисунок 19. Динамика накопления антител к ПВИС ($\log_2$) после иммунизации в прививном объёме $4,0 \text{ см}^3/\text{гол}$

Образование специфических антител к ПВИС, при использовании различных прививных объёмов, оценивали по титрам антител полученных в РТГА, значения $\log_2$ приняты в качестве зависимого параметра относительно временных интервалов после вакцинации (сут). Соответственно испытанным дозам, строили графики, где критериальным показателем считали величину $\log_2 = 8,0$. Результаты анализа действия иммунизирующей дозы вакцины для возбудителя ПВИС представлены в таблице 11.

Из представленных данных следует вывод, что у животных, привитых в объёме $1 \text{ см}^3/\text{гол}$, специфические антитела к ПВИС выявляли к 28 суткам, а к 42-м суткам они имели слабовыраженную положительную динамику. В свою очередь, специфические антитела после вакцинации животных в дозе $2 \text{ см}^3/\text{гол}$ определяли на 21-е сутки после вакцинации, и они имели положительную динамику к 42-м

суткам. Иммунизация свиней 3-ей группы прививным объемом 4 см³ привела к приросту титров антител к 28-м суткам по сравнению с группой № 1 всего лишь на порядок. В группах 2 и 3 наступление напряженного иммунного ответа отмечали на 28-е сутки после вакцинации с положительной динамикой к 42-м суткам после иммунизации.

Таблица 10 - Динамика накопления антител к возбудителю ПВИС при использовании различных прививных объемов

Сутки	Значение РТГА log ²			
	1см ³	2см ³	4см ³	Контроль
0	5,8±0,1	5,4±0,2	6,2±0,2	5,9±0,1
7	6,6±0,1	6,6±0,2	6,6±0,1	6,0±0,1
14	7,4±0,2	7,6±0,1	7,6±0,1	5,9±0,2
21	7,6±0,1	8,4±0,1	8,6±0,1	5,9±0,2
28	8,4±0,2	9,2±0,2	9,4±0,1	6,0±0,1
35	8,8±0,1	10,4±0,1	10,6±0,2	6,0±0,1
42	9,2±0,2	10,6±0,2	11,0±0,2	5,9±0,2

Примечание: Значение РТГА: $\geq 8\log_2$ – наличие специфических антител к вирусу ПВИС;

В соответствии с проведенными исследованиями можно сделать вывод, что иммунизация свиней вакцинами против рожи «ВНИИЗЖ - ЭрizeВак», а также против рожи и парвовирусной инфекции свиней инактивированной эмульсионной «ВНИИЗЖ-ЭриПВИС» не вызывает отклонений от физиологической нормы. Значительных различий в интенсивности воздействия на иммунную систему животных между иммунизирующими дозами 2,0 см³/гол и 4 см³/гол не наблюдали. Полученные данные позволили заключить, что оптимальным является объем 2 см³/гол., который формирует напряженный иммунитет через 21 сутки после повторной вакцинации согласно проекту, СТО 00495527-0505-2025 (Приложение 5), СТО 00495527-0495-2025 (Приложение 6) и проекту Инструкции по применению вакцины.

3.7. Определение серопротекции иммунизированных свиней к возбудителям рожи и ПВИС

Исследование проводили с использованием серонегативных по отношению к возбудителю рожи свиней и вирусу ПВИС поросят группы отъёма, массой 15 - 20 кг в количестве 15 голов, доставленных из специализированных питомников, благополучных по инфекционным заболеваниям.

От всех животных до начала иммунизации были отобраны пробы крови с целью определения иммунного фона к возбудителю рожи свиней и ПВИС.

Для оценки антигенной активности вакцину вводили двукратно с интервалом в 21 день в объеме 2,0 см³, внутримышечно в область верхней трети шеи. Исключая интактную группу 5 голов.

На 42-е сутки после иммунизации животные подвергались контрольному заражению внутрикожно 1 мл бактериальной суспензии *Erysipelothrix rhusiopathiae* штамма «БД-23» в концентрации 51 мк/см³.

Физиологическое состояние животных после первой и второй иммунизации оставались клинически здоровыми, физиологическое состояние в течение срока исследования оставалось в пределах нормы. Какого-либо угнетения, изменения пищевых привычек и клинических отклонений не наблюдали.

Группу свиней привитую вакциной «ВНИИЗЖ-ЭриПВИС» для определения иммуногенной активности обозначали латинской цифрой «I», группу не привитую обозначали цифрой «II*». Результаты исследований сывороток крови представлены в таблице 11.

Таблица 11 - Результаты сероконверсии вакцины «ВНИИЗЖ-ЭриПВИС»

(n=3)

№ жив.		Динамика накопления специфических антител к роже и ПВИС						
		До вакцинации		21 день		42 день*		56 день
		Рож	ПВИС	Рож	ПВИС	Рож	ПВИС	Рож
I	1	0,115±0,001	6,3±0,2	0,233±0,001	7,6±0,2	0,339±0,002	10,3±0,2	0,471±0,003
	2	0,128±0,001	6,3±0,1	0,233±0,002	7,6±0,1	0,360±0,003	10,6±0,1	0,492±0,002
	3	0,136±0,002	6,3±0,2	0,237±0,002	7,6±0,2	0,344±0,001	10,6±0,3	0,500±0,001
	4	0,130±0,001	6,3±0,2	0,239±0,003	8	0,362±0,003	10,6±0,1	0,503±0,004
	5	0,118±0,002	6,6±0,1	0,232±0,002	8,3±0,1	0,348±0,002	9,3±0,2	0,518±0,004
	6	0,124±0,001	5,6±0,1	0,252±0,001	7,6±0,1	0,340±0,004	10,6±0,1	0,415±0,004
	7	0,115±0,002	6,3±0,1	0,240±0,002	7,6±0,2	0,315±0,002	10,6±0,1	0,430±0,001
	8	0,131±0,002	5,6±0,1	0,242±0,002	8,3±0,1	0,333±0,003	10,6±0,1	0,512±0,002
	9	0,122±0,001	6,3±0,1	0,219±0,002	7,6±0,1	0,342±0,001	10,3±0,2	0,452±0,004
	10	0,112±0,001	6,3±0,2	0,232±0,001	7,6±0,2	0,353±0,003	10,6±0,1	0,476±0,003
Ср. знач.		0,122±0,001	6,2±0,04	0,237±0,002	7,74±0,1	0,336±0,004	10,54±0,1	0,457±0,01
II*	1	0,127±0,001	6,3±0,2	н/ис	н/ис	0,117±0,002	н/ис	1,923±0,007
	2	0,126±0,002	6,6±0,1	н/ис	н/ис	0,131±0,002	н/ис	2,004±0,004
	3	0,121±0,001	6,6±0,1	н/ис	н/ис	0,131±0,002	н/ис	2,060±0,009
	4	0,128±0,002	6,3±0,2	н/ис	н/ис	0,109±0,002	н/ис	1,907±0,008
	5	0,129±0,002	6,3±0,1	н/ис	н/ис	0,133±0,002	н/ис	2,111±0,005
Ср. знач.		0,127±0,0005	6,42±0,1	-	-	0,124±0,005	-	2,001±0,04

Примечание: значение ИФА: ОП $\geq 0,3$ – наличие специфических антител;значение РТГА для ПВИС: $\geq 8 \log_2$ – наличие специфических антител;

*- контрольное заражение;

н/ис – сыворотки не исследовали.

Как видно из таблицы 11, все животные до вакцинации были серонегативны к возбудителю рожи свиней и к вирусу ПВИС.

В ИФА специфические антитела к возбудителю рожи свиней после повторной вакцинации определяли у 100% иммунизированных животных в средних значениях ОП ($0,336 \pm 0,004$) по группе. Через 14 дней после внутрикожного заражения бактериальной суспензией штамма «БД-23» среднее значение ОП составило ($0,457 \pm 0,01$) по группе.

У контрольной группы животных до заражения специфические антитела к возбудителю рожи свиней не выявляли, среднее значение ОП по группе составило ($0,127 \pm 0,0005$). Через 14 дней после внутрикожного заражения бактериальной суспензией штамма «БД-23» у животных контрольной группы специфические антитела к возбудителю рожи свиней выявляли в средних значениях ОП ($2,001 \pm 0,04$).

Также в течение 14 последующих дней проводили измерение температуры тела каждого животного после контрольного заражения. Результаты наблюдений за физиологическим состоянием представлены в таблице 12.

Таблица 12 - Показатели физиологического состояния поросят после контрольного заражения

Группа животных	Поствакцинальные осложнения	Количество случаев соответственно суткам наблюдения													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
I	Угнетенное состояние животных	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Снижение аппетита, отказ от кормления	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Местная реакция в области инъекции (покраснения, уплотнения)	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Повышение температуры тела	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
II	Угнетенное состояние животных	0	1	1	3	3	3	5	5	5	5	3	3	2	1
	Снижение аппетита, отказ от кормления	0	0	1	3	3	3	3	5	5	5	4	3	2	2
	Местная реакция в области инъекции (покраснения, уплотнения)	0	0	1	3	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Повышение температуры тела	0	1	3	3	5	5	5	5	5	3	2	2	0	0

Результаты термометрии поросят свидетельствуют о том, что на вторые сутки после заражения у одного поросенка контрольной группы отмечали повышение температуры до 41,7 °С, на третьи сутки гипертермия была зафиксирована еще у двух поросят данной группы (41,5±0,5 °С). На пятые и вплоть до девятых суток после заражения гипертермию регистрировали у всех контрольных животных. Уже ко вторым суткам после заражения у контрольных

животных наблюдали угнетение, снижение аппетита. Признаки болезни в последующие дни усиливались и достигли пика на 5 – 9-е сутки после заражения.

Общее состояние здоровья опытных животных после контрольного заражения заметно отличалось от состояния контрольных поросят. Признаки угнетения, снижения аппетита наблюдали у них в меньшей мере, или они не проявлялись вообще.

Таким образом, сероконверсия к возбудителю рожи свиней у привитых поросят, положительные значения в ИФА ($0,336 \pm 0,005$ единиц ОП) и отсутствие клинических признаков заболевания в сравнении с контрольной группой являются показателями серопротекции, что доказывает протективные свойства разработанных вакцин.

3.8. Определение продолжительности иммунитета после применения вакцины на ремонтных свинках

Следующим этапом исследования было определение уровня специфических антител к возбудителю рожи и парвовирусной инфекции свиней у ремонтных свинок через 7 месяцев после вакцинации.

Для изучения продолжительности иммунитета после применения вакцины использовали 20 ремонтных свинок, которых рандомно разделили на две группы, опытную и интактную по 10 голов в каждой.

Опытную группу животных прививали двукратно с интервалом в 21 день внутримышечно в область верхней трети шеи в дозе 2см^3 .

Пробы сыворотки крови животных отбирали до вакцинации и в течение семи месяцев после вакцинации через каждые 30 дней.

Результаты исследований сывороток крови свиней, использовавшихся в опыте для изучения продолжительности иммунитета, представлены на рисунках 0, 21 и 22.

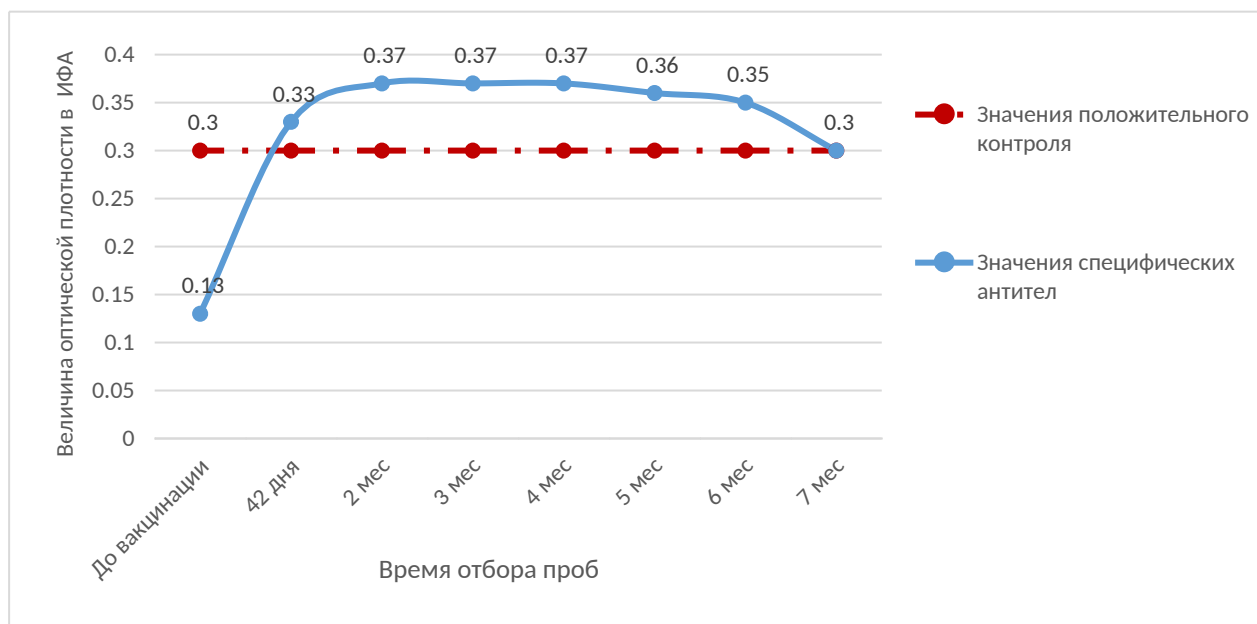


Рисунок 20. Динамика накопления антител к возбудителю рожи свиней (ОП) после иммунизации вакциной против рожи и ПВИС

Примечание: значение ИФА: оп $\geq 0,3$ – наличие специфических антител.

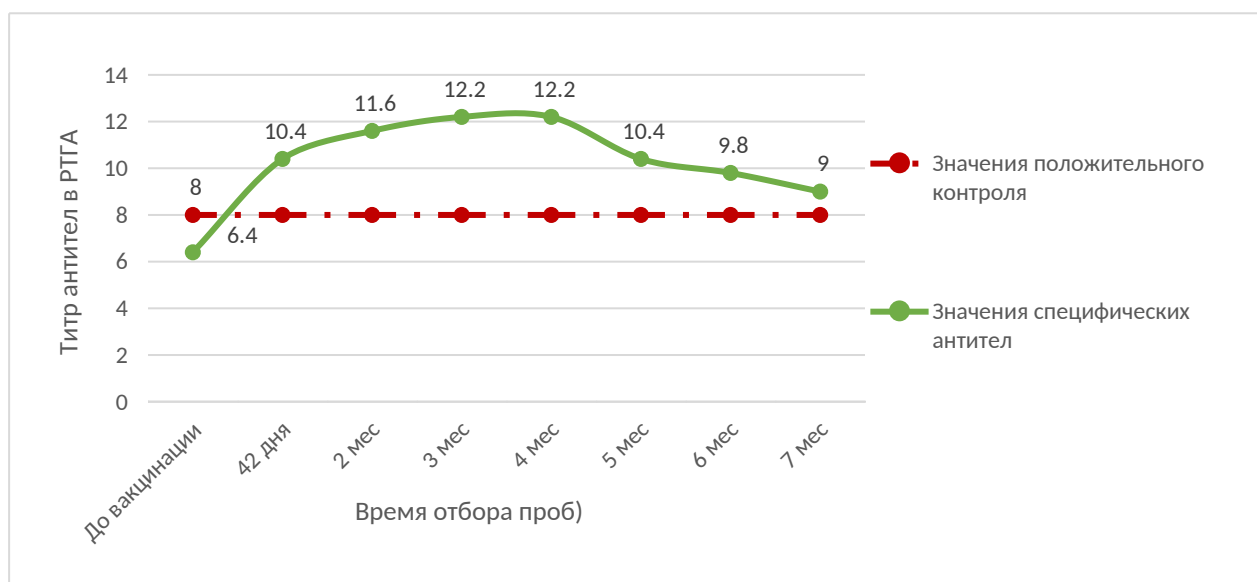


Рисунок 21. Динамика накопления антител к возбудителю ПВИС ($\log^2$) после иммунизации вакциной против рожи и ПВИС

Примечание: значение РТГА для ПВИС: $\geq 8,0 \log_2$ – наличие специфических антител.

Как видно из данных рисунков 20 и 21, все животные до вакцинации были серонегативными по отношению к возбудителям рожи свиней и ПВИС.

Результаты исследования сыворотки крови вакцинированных животных использовавшихся в опыте для изучения продолжительности иммунитета, представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Уровень специфических антител в сыворотках животных привитых против рожи и ПВИС

(n=3)

Время отбора проб.	ИФА (ОП) (рожа свиней)	РТГА (ПВИС)
До вакцинации	0,132±0,001	6,4±0,4
42 день	0,334±0,002	10,4±0,4
2 мес.	0,372±0,003	11,6±0,2
3 мес.	0,377±0,001	12,2 ±0,2
4 мес.	0,371±0,003	12,2±0,2
5 мес.	0,363±0,001	10,4±0,2
6 мес.	0,357±0,001	9,8±0,2
7 мес.	0,301±0,003	9

Примечание: Значение ИФА: ОП $\geq 0,3$ – наличие специфических антител к возбудителю рожи свиней;

Значение РТГА: $\geq 8\log_2$ – наличие специфических антител к вирусу ПВИС.

После иммунизации специфические антитела к возбудителю рожи свиней в ИФА выявляли через 42 суток после иммунизации у 100% подсвинков, где среднее значение ОП по группе составляло 0,334. Положительную динамику выработки специфических антител наблюдали до 6-го месяца после вакцинации, в котором среднее значение ОП составляло от 0,357 до 0,372. К седьмому месяцу после вакцинации только у 70% животных уровень специфических антител в ИФА превышал значение 0,30.

Специфические антитела к антигену ПВИС в РТГА выявляли через 42 суток после иммунизации у 100% подсвинков, где среднее значение по группе составляло 10,4±0,1 $\log_2$. Пиковые значения выработки специфических антител к ПВИС от

11,2±0,1 до 12,0±0,2 log₂ наблюдали до 5-го месяца после вакцинации. На шестой месяц после вакцинации у 100% животных опытной группы титры специфических антител к ПВИС в РТГА имели положительные значения, но со снижающейся динамикой, и в среднем по группе составили 9,8±0,1 log₂. К седьмому месяцу после вакцинации только у 70% животных уровень специфических антител в РТГА превышал значения 9,0±0,3 log₂.

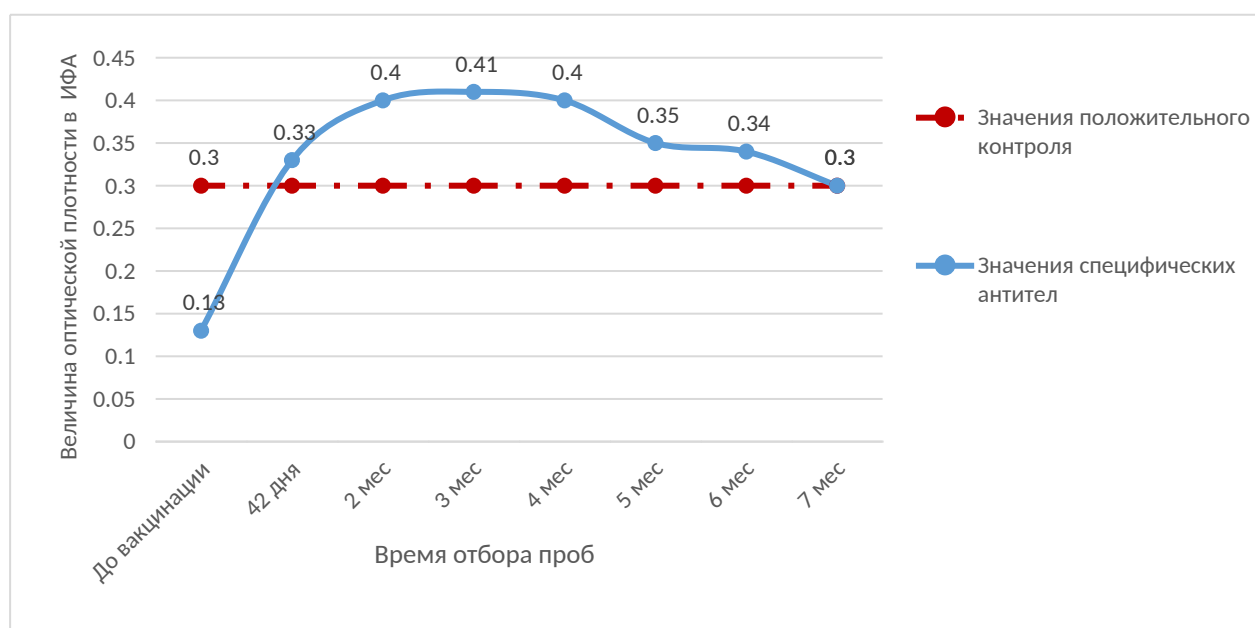


Рисунок 22. Динамика накопления антител к возбудителю рожи свиней (ОП) после иммунизации вакциной против рожи

Примечание: значение ИФА: ОП $\geq 0,3$ – наличие специфических антител.

На основании полученных в исследовании данных составили таблицу 14.

Таблица 14 - Показатели продолжительности иммунитета для рожи свиней (n=3)

Время отбора проб	ИФА (ОП) (рожа свиней)
До вакцинации	0,132±0,001
42 день	0,334±0,002
2 мес.	0,400±0,001
3 мес.	0,412±0,001
4 мес.	0,408±0,002
5 мес.	0,358±0,001
6 мес.	0,345±0,002
7 мес.	0,289±0,002

Примечание: Значение ИФА: ОП $\geq 0,3$ – наличие специфических антител к возбудителю рожи свиней.

Анализ данных рисунка 22 и таблицы 14 позволили заключить, что после иммунизации специфические антитела к возбудителю рожи свиней в ИФА выявляли через 42 суток после иммунизации у 100% подсвинков, где среднее значение ОП по группе составило 0,33. Положительную динамику выработки специфических антител наблюдали до 5-го месяца после вакцинации, на 2 - 4 месяц после вакцинации регистрировали максимальное накопление антител, среднее значение уровня антител в ИФА составляло 0,4 ОП. На шестой месяц после вакцинации у 100% животных из опытной группы титры специфических антител к возбудителю рожи свиней имели значения ОП $\geq 0,3$, но со снижающейся динамикой, и в среднем по группе значения ОП составляли 0,34. К седьмому месяцу после вакцинации только у 60% животных уровень специфических антител в ИФА в среднем по группе составлял 0,28 ОП.

Таким образом, в ходе проведенных исследований экспериментально было доказано, что иммунизация ремонтных свинок инактивированными эмульсионными вакцинами против рожи, а также против рожи и ПВИС, вызывает формирование иммунного ответа и сохранение протективного уровня антител (ОП $\geq 0,3$) не менее 6 месяцев.

3.9. Определение стабильности вакцин

Для определения сохранения свойств вакцины под воздействием внешних факторов, провели исследования по изучению стабильности разработанных препаратов. Опыты проводили на трех экспериментальных сериях в соответствии с требованиями государственной фармакопеи по показателям качества СТО (внешний вид, стерильность, безвредность, иммуногенная активность, полнота

инактивации, стабильность, вязкость) в течение предполагаемого срока годности - 12 месяцев. Контроль показателей осуществляли в 3, 6, 9 и 12 месяцев хранения.

Оценку внешнего вида и однородности вакцин проводили посредством встряхивания образцов препаратов, после чего образовывалась равномерная взвесь без хлопьев и комочков, что говорило о стабильности исследуемых образцов вакцин.

При проведении исследований на стерильность отбирали по 20 флаконов каждой экспериментальной серии «ВНИИЗЖ-ЭриПВИС» и «ВНИИЗЖ - ЭризеВак». Из каждой серии составляли объединённую пробу и производили высевы на питательные среды в объёме 2 см³. Пробы инкубировали 21 сутки при разном температурном режиме 22,5±2 °С, 32,5±2 °С и 37±2 °С. Во всех биопробах рост бактериальной, грибной и микоплазменной культур отсутствовал. По результатам проведенных исследований можно заключить, что изготовленные серии вакцин соответствуют показателям стерильности на всех сроках отбора проб.

При исследовании безвредности препаратов использовали 20 поросят отъёмышей массой 20-25 кг. Полученных из свинохозяйств, благополучных по данным заболеваниям, животных размещали в изолированные боксы на одни сутки для адаптации к новым условиям. Препарат вводили в объёме 2 и 4 см³ внутримышечно в область средней трети шеи. За поросятами вели наблюдение в течение 14 суток с ежедневной термометрией тела. По истечении 28 суток все животные оставались живы и клинически здоровы; по результатам анатомического вскрытия изменений в месте инъекции не было обнаружено, что отвечает нормам безвредности и реактогенности для вакцин «ЭризеВак» и «ЭриПВИС».

Для исследования иммуногенности вакцин «ВНИИЗЖ - ЭризеВак» и «ВНИИЗЖ - ЭриПВИС» использовали 90 поросят группы отъёма.

Вакцину считали иммуногенно активной, если через 42 суток после вакцинации у вакцинированных подсвинков в сыворотке крови уровень антител к роже имел положительное значение в ИФА, а уровень антител к ПВИС в РТГА – значения не менее 1:512.

Результаты исследований иммуногенной активности экспериментальных образцов вакцин «ВНИИЗЖ - ЭриПВИС» и «ВНИИЗЖ - ЭризеВак» в течение срока годности 12 мес. методами ИФА и РТГА представлены в таблицах 15 и 16, соответственно.

Таблица 15 - Определение иммуногенной активности серийных образцов вакцины «ВНИИЗЖ – ЭриПВИС» в течении предполагаемого срока годности

(n=3)

Период исследования, мес.	Количество животных*	Уровень специфических антител	
		ИФА (ОП) (возб. рожи)	РТГА (ПВИС)
0	5	0,353±0,003	10,6±0,4
6	5	0,358±0,005	9,8±0,4
12	5	0,348±0,004	10,4±0,6

Примечание: Значение ИФА: оп $\geq 0,3$ – наличие специфических антител к возбудителю рожи свиней;

Значение РТГА: $\geq 8 \log_2$ – наличие специфических антител к ПВИС.

Анализ данных таблицы 15 показывает, что средние показатели исследуемых проб сывороток крови свиней на всех сроках отбора имеют положительные значения как в ИФА для возбудителя рожи свиней, так и в РТГА для вируса ПВИС.

Таблица 16 - Определение иммуногенной активности серийных образцов вакцины «ВНИИЗЖ – ЭризеВак» в течении предполагаемого срока годности

(n=3)

Период исследования, мес.	Количество животных*	Уровень специфических антител в ИФА (ОП) к возбудителю рожи
0	5	0,353±0,003
6	5	0,358±0,005
12	5	0,348±0,005

Примечание: Значение ИФА: ОП $\geq 0,3$ – наличие специфических антител к возбудителю рожи свиней;

Анализ данных таблицы 16 показывает, что пробы сывороток крови свиней на всех сроках отбора имеют положительный уровень значений специфических антител в ИФА ($ОП \geq 0,3$) к возбудителю рожи свиней.

Полноту инаktivации проводили при помощи двух флаконов с вакциной, из которых после интенсивного встряхивания отобрали по 10 см³ в одну пробу.

Объединенную пробу вакцины двукратно замораживали и размораживали. После оттаивания вакцину центрифугировали при 4000 об/мин (2000 g) в течение 20 мин, и отделившуюся от масляного адъюванта фракцию антигена отбирали стерильной пипеткой.

Контроль полноты инаktivации антигена ПВИС осуществляли посредством отбора проб которые развели фосфатно-буферным раствором (ФБР) 1:10 и внесли полученную суспензию в объёме 1,0 см³ в 3 культуральных матраса объемом 50 см³ с монослоем культуры клеток ППК, термостатировали при температуре (37±1 °С) в течении 30 мин и добавили по 9 см³ питательной среды. Все пробы оставили инкубироваться в течение 48 часов при температуре (37±1) °С с ежедневной микроскопией на наличие ЦПД. Через 48 ч инкубирования матрасы с культурой клеток заморозили при температуре минус (20±2 °С).

По истечении 48 часов заморозки гемагглютинирующий титр культуральной жидкости в РГА составил 1:2, после чего было проведено микроскопирование, по результатам которого ЦПД в монослое клеток ППК первого пассажа отсутствовало; исследуемый антиген ПВИС считается полностью инаktivированным.

Пробу антигена бактерий *E.rhusiopathiae* засеяли в объёме 0,5 - 1,0 см³ на три чашки Петри с чувствительной питательной средой – сердечно-мозговым агаром и инкубировали при температуре 37±1 °С на 24 ч. В завершение процесса инкубирования произвели подсчёт колониеобразующих единиц, роста на

поверхности агара не было обнаружено. Отсюда следует вывод - антиген рожи свиней в вакцине можно считать полностью инаktivированным.

Для определения стабильности эмульсии образцы вакцин «ВНИИЗЖ-ЭриПВИС» и «ВНИИЗЖ ЭризеВак» центрифугировали при 4000 об/мин (не менее 2147 g) в течение 10 минут. При визуальном осмотре проб было определено, что эмульсия стабильна, значения фракций составили: антиген – 1% (при норме до 10%) и адъювант – 99%; водной фракции на дне пробирок не было обнаружено. Таким образом установили, что эмульсия стабильна.

Исследование кинематической вязкости образцов определяли с помощью капиллярного вискозиметра ВПЖ - 2, исследование показало, что вязкость вакцин составляет 5,33 мм²/с.

В результате исследования образцов разработанных вакцин по внешнему виду, отсутствию посторонних примесей, показателям стерильности, стабильности эмульсии, кинематической вязкости, безвредности и иммуногенной активности в течение всего заявленного срока годности – 12 месяцев было установлено, что вакцина «ВНИИЗЖ - ЭризеВак» соответствует требованиям СТО 00495527-0495-2025 (Приложение 5), а вакцина «ВНИИЗЖ - ЭриПВИС» соответствует требованиям СТО 00495527-0505-2025 (Приложение 6).

3.10. Сравнительные испытания разработанных препаратов

В соответствии с программами импортозамещения средств специфической профилактики, разработанные препараты подвергли сравнительным испытаниям с вакцинами иностранного производства.

Подготовили шесть образцов вакцин:

- 1) Вакцина против рожи и парвовирусной инфекции свиней инаktivированная (Нидерланды);
- 2) Вакцина против парвовирусной инфекции и рожи свиней инаktivированная (Испания);

- 3) Эмульсионная инактивированная вакцина против рожи и парвовирусной инфекции свиней «ВНИИЗЖ ЭриПВИС» (ФГБУ ВНИИЗЖ);
- 4) Вакцина против рожи свиней инактивированная (Нидерланды);
- 5) Вакцина против рожи свиней инактивированная (Испания);
- 6) Эмульсионная инактивированная вакцина против рожи и парвовирусной инфекции свиней «ВНИИЗЖ ЭризеВак» (ФГБУ ВНИИЗЖ).

Результаты представлены на рисунках 23, 24 и 25.

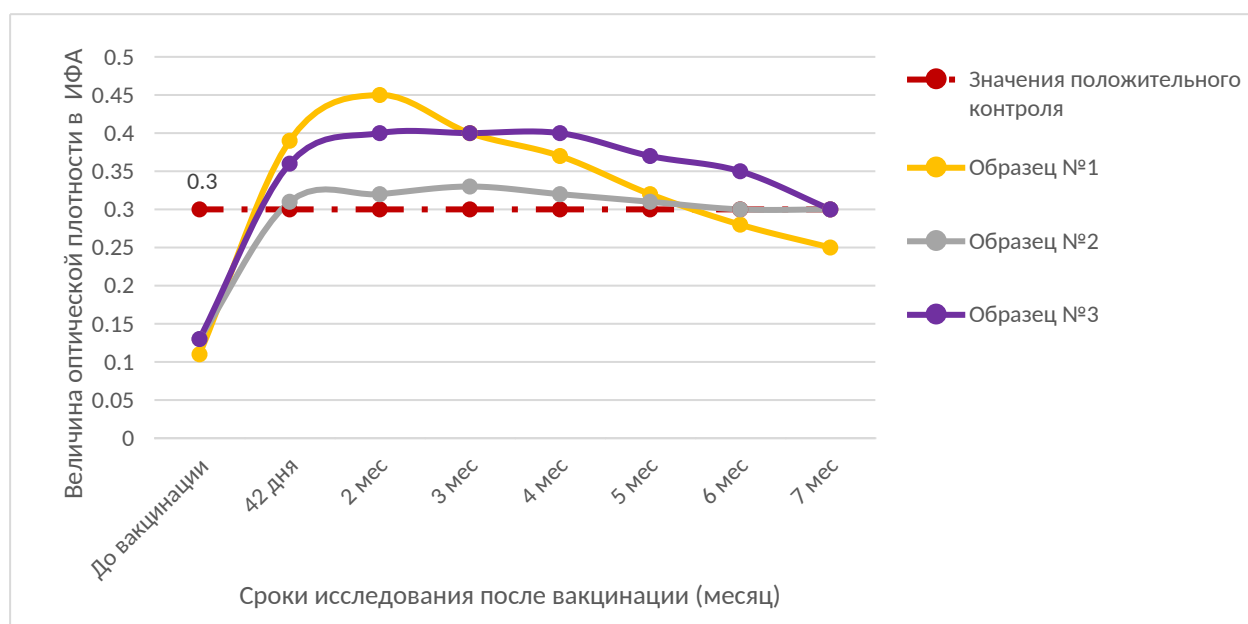


Рисунок 23 Динамика образования антител к роже свиней в сыворотке крови привитых животных

Примечание: значение ИФА: ОП $\geq 0,3$ – наличие специфических антител.

Из данных рисунка 23 видно, что использованные в опыте импортные ассоциированные средства специфической профилактики обеспечивали уровень защиты от рожи свиней в достаточной степени, однако после применения образца № 1 напряженный поствакцинальный иммунитет сохранялся до 5 месяцев, в случае же применения двух других образцов положительный уровень поствакцинальных антител сохранялся до 7 месяцев. После применения образца под номером 2 видно, что пороговое значение уровня антител достигало максимальной отметки в 0,33 ОП, в свою очередь образцы под номерами 1 и 3 достигали отметки 0,4 и 0,37 соответственно.

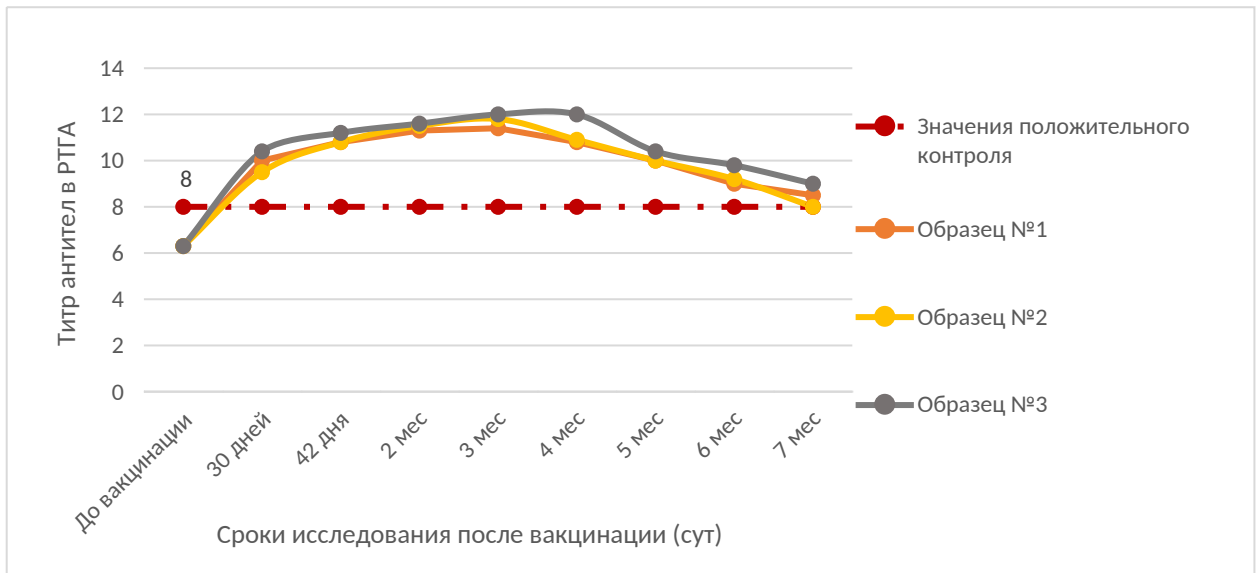


Рисунок 24. Титр антител к ПВИС при иммунизации ассоциированной вакциной

Примечание: значение РТГА для ПВИС: $\geq 8,0 \log_2$ – наличие специфических антител.

Данные рисунка 24 указывают на целесообразность использования образца под номером 3 в связи с максимальной продолжительностью иммунитета при максимально высоком уровне образования поствакцинальных антител в сравнении с образцами под номерами 1 и 2.

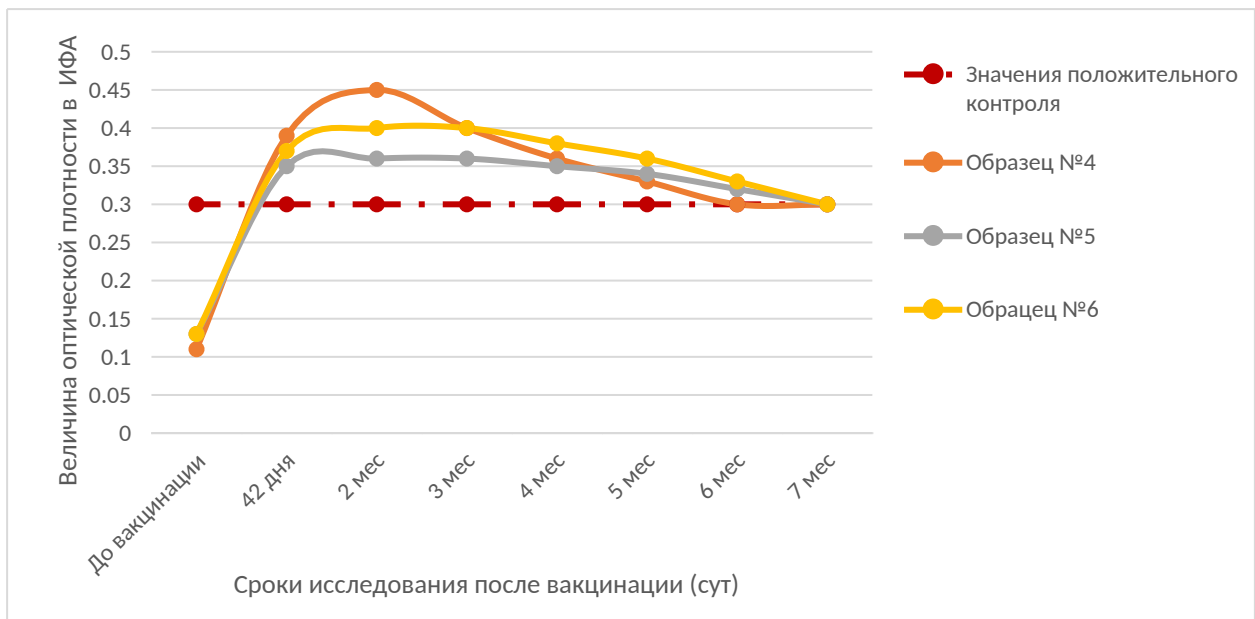


Рисунок 25. Динамика накопления антител к роже свиней при вакцинации моновакцинами

Примечание: значение ИФА: ОП $\geq 0,3$ – наличие специфических антител.

Результаты сравнительного исследования моновакцин против рожи свиней, представленные на рисунке 25, показывают, что иммуногенность вакцины под номером 6 сохраняется на срок до 7 месяцев.

На основании полученных результатов было установлено, что по таким показателям, как уровень накопления антител и продолжительность иммунного ответа, разработанные вакцины «ВНИИЗЖ ЭриПВИС» и «ВНИИЗЖ ЭризеВак» превосходят аналогичные препараты импортного производства.

4. ОБСУЖДЕНИЕ

Инфекционные болезни свиней имеют широкое распространение по всему миру и наносят значительный экономический ущерб свиноводческим хозяйствам. Так, рожа свиней, возбудителем которой является бактерия рода *E. rhusiopathiae*, и парвовирусная инфекция свиней, вызываемая вирусом семейства *Parvoviridae*, - часто встречающиеся сопутствующие патогены, основное направление в борьбе с которыми занимает иммунизация поголовья. [1, 6, 24, 34, 37, 69, 89, 106, 111, 124].

По сообщениям зарубежных и отечественных авторов [8, 16, 39, 40, 57, 74, 80] для активной вакцинации свиней против рожи используют как живые, так и инактивированные препараты, в случае же с ПВИС используются только инактивированные.

Преимущества применения инактивированных вакцин в ассоциированных вариантах препаратов доказаны отечественными и зарубежными учеными. Основным постулатом является безвредность препаратов и сокращение количества инъекций при большем охвате возбудителей, что ведет к нивелированию стресс-факторов, которые, в свою очередь, играют немаловажное значение в животноводстве. Результаты исследований иммунобиологических свойств разработанных препаратов подтверждают сведения литературных источников [13, 14, 16, 18, 20, 35, 57, 59]. Инактивированные моновакцины хоть и обеспечивают менее напряженный иммунитет в сравнении с живыми, однако неоспоримым преимуществом при их применении является отсутствие поствакцинальных осложнений, которые могут быть связаны с использованием недостаточно аттенуированных штаммов в составе живого средства специфической профилактики [13, 16, 20, 35, 62, 65].

В соответствии с планом НИР «Ветблагополучие» и программой по разработке вакцин против рожи свиней, а также против рожи и парвовирусной инфекции свиней были выделены эпизоотические изоляты возбудителей рожи свиней в свинохозяйствах Российской Федерации. Разработка и изучение иммунобиологических свойств инновационных инактивированных средств

специфической профилактики являются важной задачей ветеринарии для борьбы с инфекционными болезнями.

В экспериментальной работе были использованы 2 штамма рожи свиней, один из которых - актуальный эпизоотический штамм, выделенный на территории Российской Федерации из патологического материала павшей свиньи. При исследовании возбудителей были изучены их морфологические, биохимические, гемолитические и протеомические свойства. В связи с отсутствием наборов отечественного производства для идентификации и диагностики рожи свиней были использованы зарубежные коммерческие наборы. Изучение свойств возбудителя ПВИС не проводили, так как все исследования были выполнены ранее. По результатам исследования биологических свойств штаммов возбудителей рожи свиней было доказано их полное видовое соответствие.

По мнению ряда авторов [5, 8, 29, 35, 36, 41, 48, 74, 86] одним из первых этапов в изготовлении вакцины является получение бактериального сырья, качество и количество которого напрямую зависит от используемых компонентов. Для получения максимально возможного количества бактерий рожи нами были изучены факторы, влияющие на рост при динамическом культивировании. Так максимальная концентрация живых микробных клеток обоих штаммов по достижении 22 часов была в пределах $10,05 \pm 0,2 \lg \text{КОЕ/см}^3$ при использовании сердечно-мозгового бульона с добавлением 10% нормальной стерильной сыворотки лошади.

По результатам данного опыта была доказана зависимость между используемыми компонентами и показателями процесса культивирования бактерии *E. rhusiopathiae*. В оптимизированных условиях было сокращено время культивирования и увеличен максимальный объем биомассы по сравнению с ранними разработками ученых [10, 21]. Однако, различий в качественных свойствах полученной бактериальной массы обнаружено не было.

По мнению ряда авторов [2, 19, 42, 63, 68, 77, 91, 93, 98, 112] процесс инактивации основывается на выборе оптимального инактивирующего вещества, которое влечет за собой снижение жизнеспособности микроорганизмов, при этом

минимизируя воздействие на иммуногенные свойства. Исследования по подбору инактивирующего средства вели с учетом сохранения протективных свойств микроорганизмов.

Таким образом, изучив литературные данные [8, 9, 15, 84, 87, 98, 112] и опираясь на полученную информацию, в исследование нами были включены формальдегид и его производные, в том числе формалин, наиболее распространенный в производстве. При использовании формалина необходимыми условиями являются соблюдение температурного режима (инаktivация происходит при $37 \pm 0,5$ °C) с допустимой концентрацией 0,4 - 0,5%. Димер - часто используемое вещество в производстве инаktivированных вирусных вакцин, наряду с его высокой эффективностью отмечается выраженное токсическое действие. β -пропиолактон - высокотоксичный, труднодоступный препарат, главным плюсом которого является распад при температуре свыше 5 °C на углекислый газ и воду.

Определение компонента для инаktivации проходило с учетом времени и концентрации препарата. Таким образом, было установлено, что все изученные вещества имели разную инаktivирующую активность. Проведенные исследования показали, что формальдегид полностью инаktivировал микроорганизм за 20 часов при 0,1% концентрации; β -пропиолактона, при той же концентрации полностью инаktivировал бактерию за 22 часа; димер при той же концентрации имел наименьшую активность, и показатель полной инаktivации не был достигнут. При использовании 0,2% концентрации формальдегид инаktivировал бактерию за 14 ч.; β -пропиолактон - за 18 ч, а димер - за 5 суток.

Результаты опыта по инаktivации согласуются с ранее полученными данными исследователей [2,76,114] по использованию формалина в качестве инаktivирующего средства для бактериального антигена. Однако оптимальной концентрацией для микроорганизма рода *Erysipelothrix* было определено 0,2%, а выбор данного вещества обусловлен его активностью, экономической

доступностью и минимальным воздействием на иммуногенные свойства по сравнению с β -пропиолактоном и димером.

Следующим этапом работы было конструирование экспериментального образца вакцины. Первым пунктом при создании препарата было решено подобрать безвредный, ареактогенный адъювант, обеспечивающий высокие показатели иммуногенного ответа, что согласуется с более ранними исследованиями ученых по изучению свойств адъювантов в составе эмульсионных препаратов [14, 29, 118]. Таким образом, в работе использовались 5 коммерческих адъювантов: IMS 1313, IMS 2215, ISA 70, ISA 28R, ISA 201, обладающие разными физико-химическими свойствами, в том числе различной степенью лиофильности, лиофобности, вязкости и процентным содержанием эмульгатора. При исследовании лабораторных образцов на реактогенность и безвредность наиболее выраженная местная реакция была выявлена при использовании ISA 28R, ISA 201 и в меньшей степени ISA 70, что подтверждается данными исследователей [14, 91, 118], в свою очередь, образцы вакцины, изготовленные из адъювантов микроэмульсии типа IMS, обладали показателями реактогенности, превосходящими результаты использования адъювантов серии ISA.

В результате проведенных исследований установлено, что при использовании IMS 1313 наиболее оптимальным является соотношение антигена и адъюванта 50:50. Максимальный уровень накопления антител в сыворотке крови наступает через 21 день после повторной вакцинации, которая приводит к более выраженной реакции организма, сопровождающейся повышением титров антител. Вакцины против рожи «ВНИИЗЖ - ЭризеВак», а также против рожи и парвовирусной инфекции свиней инактивированная эмульсионная «ВНИИЗЖ-ЭриПВИС» не вызывают отклонений от физиологической нормы. Значительных различий в интенсивности воздействия на иммунную систему животных между иммунизирующими дозами 2,0 см³/гол и 4,0 см³/гол не наблюдалось. Результаты опыта позволили считать, что оптимальным, формирующим напряженный иммунитет, является объем 2,0 см³/гол.

Для подтверждения иммуногенности исследуемых вакцин были проведены опыты по определению уровня специфических антител в сыворотке крови вакцинированных животных. Многие авторы [13, 18, 41, 46, 90, 96] считают, что наиболее достоверные данные для подтверждения иммуногенных свойств вакцины получают при проведении контрольного заражения.

Экспериментально нами установлена зависимость между количеством единиц ОП и защитным действием вакцины. Контрольное заражение показало, что общее состояние опытных животных заметно отличалось от состояния контрольных, не вакцинированных поросят. В свою очередь, небольшой прирост антител к возбудителю рожи свиней и отсутствие клинических признаков заболевания у привитых животных в сравнении с контрольной группой указывает на достаточно высокую иммуногенную активность вакцины, что подтверждает выводы выше указанных авторов.

Определение стабильности инактивированных эмульсионных вакцин, по мнению ряда авторов [55, 74, 86, 97, 115] проводят с учетом оценки внешнего вида и наличия посторонних примесей, стерильности, безвредности, иммуногенной активности, полноты инактивации, стабильности эмульсии и вязкости. Разработанные нами вакцины «ВНИИЗЖ-ЭризеВак» и «ВНИИЗЖ-ЭриПВИС» были изучены по всем пунктам на временном промежутке 12 месяцев. Отметим, что при использовании адьюванта IMS 1313, препарат обладал высокими показателями стабильности эмульсии, сохраняемой на протяжении всего срока годности. Образование осадка на дне флакона, который легко диспергировался при встряхивании, не влияло на безвредность и иммуногенные свойства препарата, что подтверждает результаты, полученные ранее другими исследователями.

Исходя из данных литературных источников [46, 90, 96], для подтверждения результатов иммунобиологических свойств вакцины необходимо масштабировать опыт для увеличения критических точек и сбора статистических данных.

Поэтому для дальнейшего изучения препаратов провели клинические испытания на крупном свиномкомплексе ООО «Южное» Республика Крым, г. Симферополь. По результатам исследований на поголовье различных

половозрастных групп было установлено, что вакцина против рожи инаktivированная эмульсионная «ВНИИЗЖ-ЭризеВак» и вакцина против рожи и парвовирусной инфекции свиней инаktivированная эмульсионная «ВНИИЗЖ – ЭриПВИС» безвредны и обладают высокими показателями эффективности.

Заключительной частью работы стало проведение сравнительных испытаний с вакцинами иностранного производства, в результате которых установлено, что разработанные препараты не уступают импортным аналогам по иммуногенным свойствам и продолжительности формируемого иммунитета, и обладают явным экономическим превосходством.

Данная работа проведена по планам НИР «Разработка комплексной системы контроля инфекционных болезней животных и совершенствование методов исследования остатков запрещённых веществ в организме животных, кормах и продуктах животного происхождения» в рамках разработки инаktivированных эмульсионных препаратов против рожи «ВНИИЗЖ-ЭризеВак», а также против рожи и парвовирусной инфекции свиней «ВНИИЗЖ – ЭриПВИС».

5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

5.1 Выводы

1. Изучены биологические свойства полевых изолятов возбудителя рожи свиней, из которых отобран кандидат для производства вакцин и депонирован как штамм *E. rhusiopathiae* «БД-23» в качестве производственно-контрольного под регистрационным номером № 703.

2. В процессе множественных пассажей в производственных питательных средах получен генетически измененный вариант штамма *E. rhusiopathiae* «М-2», который на основании молекулярно-генетических исследований депонирован в качестве производственно-контрольного штамма *E. rhusiopathiae* «М-2» под регистрационным номером № 711 - деп/23.

3. Определён оптимальный состав питательной ростовой среды (сердечно-мозговой бульон с добавлением 10% сыворотки лошади) и параметры культивирования *E. rhusiopathiae* ($37 \pm 0,5$ °C, 180 об/мин), обеспечивающие максимальное накопление бактериальной массы.

4. Определены оптимальные параметры инаktivации *E. rhusiopathiae* формальдегидом: 0,2 % раствор, 37 °C, время инаktivации 24 ч.

5. Экспериментально доказано, что адъювант Montanide IMS-1313 в составе вакцин против рожи свиней и против рожи и ПВИС безвреден и ареактогенен для восприимчивых животных.

6. Определены иммунизирующие дозы инаktivированных антигенов *E. rhusiopathiae* «БД-23», *E. rhusiopathiae* «М-2» и ПВИС в составе разработанных препаратов, которые индуцируют у восприимчивых животных напряженный иммунитет продолжительностью 6 месяцев.

5.2 Практические предложения

1. Проведено депонирование использованных в работе штаммов бактерии возбудителя рожи свиней «*Erysipelothrix rhusiopathiae* БД-23» и «*Erysipelothrix rhusiopathiae* М-2» в ГКШМ ФГБУ «ВНИИЗЖ» в качестве производственно-контрольных штаммов. (Приложения 1, 2).

2. По результатам проведенных исследований разработаны, утверждены в установленном порядке и внедрены в ветеринарную практику:

- СТО № 00495527-0482-2023 «Штамм “*Erysipelothrix rhusiopathiae* БД-23” Производственно-контрольный. Методы изготовления и контроля посевных материалов» (Приложение 3);

- СТО № 00495527-0491-2023 «Штамм “М-2” *ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE*. Методы изготовления и контроля посевных материалов» (Приложение 4);

- СТО № 00495527-0495-2025 «Вакцина против рожи свиней инактивированная эмульсионная “ВНИИЗЖ - ЭризеВак”» (Приложение 5);

- СТО № 00495527-0505-2025 «Вакцина против рожи и парвовирусной инфекции свиней инактивированная эмульсионная “ВНИИЗЖ - ЭриПВИС”» (Приложение 6);

- Регистрационное удостоверение лекарственного препарата для ветеринарного применения № 007361 «Вакцина против рожи свиней инактивированная эмульсионная» (Приложение 7);

- Регистрационное удостоверение лекарственного препарата для ветеринарного применения № 007362 «Вакцина против рожи и парвовирусной инфекции свиней инактивированная эмульсионная» (Приложение 8);

3. Получен патент на изобретение (в соавторстве) №2860278 «Вакцина против рожи и парвовирусной инфекции свиней инактивированная эмульсионная» (Приложение 9);

- Заявка на изобретение (в соавторстве) «Штамм «*Erysipelothrix rhusiopathiae* БД-23» бактерии вида *Erysipelothrix rhusiopathiae* для изготовления биопрепаратов для специфической профилактики рожи свиней» (Приложение 10);

5.3. Перспективы дальнейшей разработки темы

Основным направлением дальнейших исследований является выделение и изучение биологических свойств возбудителей болезней свиней, циркулирующих на территории Российской Федерации, для актуализации вакцинных штаммов и перспективы разработки новых биопрепаратов.

6. СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВНИИЗЖ – всероссийский научно-исследовательский институт защиты животных

ДЭИ – димер этиленимина

КИ – Клинические испытания

М-2 - штамм бактерии возбудителя рожи свиней

МПА – мясо-пептонный агар

МПБ – мясо-пептонный бульон

ОП – показатель оптической плотности

ППК – перевиваемая культура клеток почки поросенка

СКА – соево-казеиновый агар

СКБ – соево-казеиновый бульон

СМБ – сердечно-мозговой бульон

СМА – сердечно-мозговой агар

мк/мл – микробная клетка на миллилитр

7. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алипер, Т. И. Актуальные инфекционные болезни свиней / Т. И. Алипер. — Москва : ЗооВетКнига, 2019.
2. Александрова, М. А. Инактивированная бактериальная культуральная суспензия *E. coli* — действующий компонент фармакологических препаратов / М. А. Александрова, В. В. Радченко, В. М. Липкин // Современные проблемы науки и образования. — 2011. — № 6.
3. Ануфриев, П. А. Эпизоотологическая и клинико-морфологическая диагностика парвовирусной инфекции свиней (ПВИС) / П. А. Ануфриев, П. А. Паршин, С. М. Сулейманов // Ветеринарная патология. — 2009. — № 3 (30). — С. 45–52.
4. Ашмарин, И. П. Статистические методы в микробиологических исследованиях / И. П. Ашмарин, А. А. Воробьев. — Ленинград : Государственное издательство медицинской литературы, 1962. — 182 с.
5. Баборенко, Е. П. Изучение антигенной активности ассоциированных вакцин против болезни Ауески, репродуктивно-респираторного синдрома и парвовирусной инфекции свиней / Е. П. Баборенко, Е. К. Долганов, К. Н. Груздев // Ветеринария сегодня. — 2018. — № 2 (25). — С. 33–38.
6. Бакулов, И. А. Рожа свиней / И. А. Бакулов, В. А. Ведерников, В. А. Семинихин // Эпизоотология с микробиологией. — Москва : Колос, 1997. — 480 с.
7. Бакулов, И. А. Эпизоотология с микробиологией / И. А. Бакулов ; под ред. И. А. Бакулова. — Москва, 1987. — 352 с.
8. Боровков, М. Ф. Ветеринарно-санитарная экспертиза с основами технологии и стандартизации продуктов животноводства / М. Ф. Боровков, В. П. Фролов, С. А. Серко ; под ред. М. Ф. Боровкова. — Санкт-Петербург : Лань, 2010. — 448 с.
9. Гайнутдинов, Т. Р. Определение радиозащитной эффективности инактивированных гамма-облучением штаммов микроорганизмов /

Т. Р. Гайнутдинов, А. М. Идрисов, А. В. Фролов [и др.] // Ветеринарный врач. — 2022. — № 2. — С. 12–17.

10. Горьков, А. А. Исследование влияния температуры, pH на увеличение биомассы *Erysipelothrix rhusiopathiae* / А. А. Горьков // Научный журнал молодых ученых. — 2016. — № 2 (7). — С. 88–93.

11. ГОСТ 28085-2013. Средства лекарственные биологические для ветеринарного применения. — Москва : Стандартинформ, 2014. — 24 с.

12. Гусев, С. А. Изучение условий инаktivации вируса инфекционной бурсальной болезни / С. А. Гусев, З. Я. Михалишина, А. В. Борисов, В. В. Борисов // Ветеринарная медицина : межвед. темат. науч. сб. — Харьков, 1999. — Вып. 76. — С. 127–131.

13. Долганова, Е. К. Количественная оценка антигенной активности вакцины против парвовирусной инфекции свиней (ПВИС) / Е. К. Долганова, Т. З. Байбиков, К. П. Николаева, И. Я. Курман // Биотехнология. Теория и практика. — 1998. — № 1–2 (123). — С. 56–60.

14. Ерофеев, С. Г. Парвовирусная инфекция свиней: эпизоотология, диагностика и специфическая профилактика : дис. канд. вет. наук : 16.00.03 / Ерофеев Сергей Геннадьевич. — Москва, 2001. — 148 с.

15. Ермолаев, А. В. Гастон Рамон и краткая история анатоксинов (к 100-летию открытия) / А. В. Ермолаев, А. Е. Ершов, Т. С. Сорокина [и др.] // Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. — 2024. — № 1. — С. 22–28.

16. Жукова, Н. В. Современные вакцины: характеристика и классификация / Н. В. Жукова, И. М. Кривошеева // Крымский терапевтический журнал. — 2013. — № 2 (21). — С. 44–49.

17. Жугунисов, К. Д. Сравнительная оценка эффективности различных адъювантов при изготовлении инаktivированной вакцины против блутанга / К. Д. Жугунисов, Д. С. Таранов, З. Д. Ершебулов [и др.] // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. — 2017. — № 3 (35). — С. 67–72.

18. Икоев, В. Н. Особенности изучения иммуногенности бактериальных вакцин в клинических исследованиях / В. Н. Икоев, Н. Ф. Никитюк, Ю. И. Обухов [и др.] // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. — 2013. — № 1 (45). — С. 18–23.
19. Каспарова, Е. А. Применение длинноволнового излучения видимого спектра для инаktivации микроорганизмов / Е. А. Каспарова, Я. Бяо, Ю. А. Бочарова [и др.] // Вестник офтальмологии. — 2020. — Т. 136, № 6. — С. 42–49.
20. Коваленко, А. М. Стратегия повышения эффективности средств диагностики и профилактики инфекционных болезней у свиней / А. М. Коваленко, Д. А. Евглевский, А. О. Павленко, К. В. Татарников // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. — 2013. — № 2. — С. 77–81.
21. Колотилова, Т. Г. Использование питательной среды для глубинного культивирования сальмонелл после многократной термической стерилизации / Т. Г. Колотилова, В. С. Русалеев, В. М. Гневашев [и др.] // Научные основы производства ветеринарных биологических препаратов : тез. докл. — Щелково, 2000. — С. 178.
22. Колычев, Н. М. Возбудитель рожи свиней / Н. М. Колычев, Р. Г. Госманов // Ветеринарная микробиология и микология : учебник. — Санкт-Петербург : Лань, 2014. — С. 312–318.
23. Комина, А. Распространение и филогенетический анализ парвовирусов свиней в популяции диких кабанов в России / А. Комина, Б. Ян, Ю. А. Бочарова [и др.] // BMC Genomics. — 2025.
24. Котов, В. Т. Рожа (Erysipelas) / В. Т. Котов // Болезни свиней. — 2-е изд., перераб. и доп. — Москва : Государственное издательство сельскохозяйственной литературы, 1961. — С. 98–105.
25. Кузьменко, М. А. Характеристика некоторых производственных и контрольных штаммов рожи *Erysipelotrix rhusiopathiae* / М. А. Кузьменко,

Л. Г. Цатурян, О. Д. Складов, О. С. Пивоварова // Ветеринарный врач. — 2022. — № 4. — С. 23–27.

26. Кузьмин, В. А. Эпизоотология с микробиологией / В. А. Кузьмин, А. В. Святский, А. С. Алиев [и др.] ; под ред. Л. С. Фогель. — 2017. — 512 с.

27. Курман, И. Я. Разработка технологии изготовления и контроля ассоциированной инактивированной вакцины против репродуктивно-респираторного синдрома и парвовирусной инфекции свиней : дис. канд. вет. наук : 16.00.03 / Курман Игорь Ярославович. — Владимир, 2001. — 134 с.

28. Лобастов, А. Е. Использование димера этиленimina для инактивации вируса инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота / А. Е. Лобастов // Проблемы вирусологии, молекулярной биологии и гистологии сельскохозяйственных животных. — Москва, 1983. — С. 4–5.

29. Лобастов, А. Е. Изучение сроков хранения инактивированной димером этиленimina вакцины против инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота / А. Е. Лобастов. — Москва, 1983. — 7 с. — Деп. в МВА им. К. И. Скрябина, № 84-83.

30. Лозовой, Д. А. Очистка инактивированного вируса снижения яйценоскости-76 от балластных белков / Д. А. Лозовой, В. В. Борисов, О. В. Воробьева, О. А. Борисова // Достижения молодых ученых — в ветеринарную практику : материалы конф. молодых ученых. — Владимир, 2000. — С. 19–23.

31. Лозовой, Д. А. Экспресс-тест определения стабильности масляных вакцин с эмульсией обратного типа / Д. А. Лозовой, В. В. Борисов, Д. Л. Долгов [и др.] // Сб. науч. тр. ВГНКИ. — Москва, 2005. — Т. 65. — С. 119–128.

32. Лихолетов, С. М. Современные аспекты разработки вакцин, адъювантов и иммуномодуляторов / С. М. Лихолетов // Успехи современной биологии. — 1988. — Т. 105, вып. 1. — С. 83–89.

33. Мамедов, М. К. Классификация вирусов — эволюция подходов за первые 50 лет / М. К. Мамедов // Биомедицина (Баку). — 2008. — № 4. — С. 15–21.
34. Методические указания по лабораторной диагностике рожи (эризипелоида) свиней. — Утверждены 26 января 2001 г. — 12 с.
35. Медуницын, Н. В. Вакцины. Новые способы повышения эффективности и безопасности вакцинации / Н. В. Медуницын, А. Н. Миронов // Вопросы вирусологии. — 2012. — № S1. — С. 44–48.
36. Медуницын, Н. В. Вакцинология / Н. В. Медуницын. — Москва : Триада-Х, 1999. — 272 с.
37. Мельник, Р. Н. Анализ рынка вакцин против рожи свиней Российской Федерации / Р. Н. Мельник, Н. В. Хаустова, Н. В. Мельник [и др.] // Ветеринарный врач. — 2022. — № 5. — С. 30–35.
38. Орлянкин, Б. Г. Парвовирусная болезнь свиней: обзор иностранной литературы / Б. Г. Орлянкин, В. А. Сергеев, В. А. Седов // Ветеринария. — 1994. — № 6. — С. 56–59.
39. Орлянкин, Б. Г. Патология репродукции свиней. Обзор / Б. Г. Орлянкин // Российский ветеринарный журнал. — 2009. — № 2. — С. 14–18.
40. Панин, А. Н. Сертификация — системный подход к управлению качеством ветеринарных препаратов / А. Н. Панин, А. Д. Третьяков [и др.] // Сб. науч. тр. ВГНКИ. — Москва, 1996. — Т. 56. — С. 3–8.
41. Потехин, А. В. Разработка ассоциированной вакцины против пастереллеза и сальмонеллеза свиней инактивированной эмульсионной : дис. канд. вет. наук : 16.00.03 / Потехин Андрей Владимирович. — Москва, 2001. — 156 с.
42. Прунтова, О. В. Инактивация пастерелл и сальмонелл димером этиленimina / О. В. Прунтова, В. С. Русалеев, В. М. Гневашев [и др.] // Ученые записки Витебской ордена «Знак Почета» государственной академии ветеринарной медицины. — Витебск, 2001. — Т. 37, ч. 2. — С. 135–137.

43. Прунтова, О. В. Разработка технологии производства инактивированных эмульсионных вакцин против сальмонеллеза и пастереллеза свиней : дис. ... д-ра биол. наук : 03.00.23 / Прунтова Ольга Владиславовна. — Москва, 2003. — 312 с.
44. Рубан, Е. А. Промышленная технология производства противобактериальных препаратов / Е. А. Рубан, Н. В. Мельник, Е. А. Непоклонов [и др.] ; под ред. А. Я. Самуйленко. — Москва : ИКЦ «Академкнига», 2006. — 267 с.
45. Рубинский, И. А. Выделение и отбор полевых изолятов гемофильной плевропневмонии свиней для создания инактивированной вакцины / И. А. Рубинский, Н. И. Лаврентьев, А. Т. Кушнир // Вопросы ветеринарной вирусологии, микробиологии и эпизоотологии : материалы науч. конф. ВНИИВВиМ. — Покров, 1992. — С. 112–116.
46. Русалеев, В. С. Изучение иммуногенной активности ассоциированной вакцины против пастереллеза и сальмонеллеза свиней эмульсионной инактивированной / В. С. Русалеев, В. М. Гневашев, О. В. Прунтова [и др.] // Актуальные проблемы патологии сельскохозяйственных животных : материалы междунар. науч.-практ. конф. — Минск, 2000. — С. 323–324.
47. Русалеев, В. С. Лабораторная модель для оценки иммуногенности инактивированных противопастереллёзных вакцин / В. С. Русалеев, В. М. Гневашев, О. В. Прунтова [и др.] // Диагностика, профилактика и меры борьбы с особо опасными экзотическими и зооантропонозными болезнями животных : сб. ст. междунар. науч.-практ. конф. — Покров, 2000. — С. 237–238.
48. Руководство по вакцинному и сывороточному делу / под ред. П. Н. Бургасова. — Москва : Медицина, 1978. — 440 с.
49. Смоленский, В. И. Использование димера этиленимина для инактивации аденовирусов КРС / В. И. Смоленский, К. К. Вертинская // Сборник научных трудов МВА. — 1979. — Т. 106. — С. 91–95.
50. Сергеев, В. А. Вирусные вакцины / В. А. Сергеев // Урожай. — 1993. — № 370.

51. Семенцов, В. И. Парвовирусная инфекция свиней / В. И. Семенцов, И. А. Болоцкий, А. К. Васильев [и др.] // Ветеринария Кубани. — 2008. — № 4. — г. Краснодар.
52. Семакова, А. П. Адъювантные технологии в создании современных вакцин / А. П. Семакова, Н. И. Микшис // Проблемы особо опасных инфекций. — 2016. — № 2.
53. Ситьков, В. И. Особенности промышленного производства ассоциированных и поливалентных биопрепаратов / В. И. Ситьков, В. Ш. Гелидзе // Диагностика, лечение и профилактика заболеваний сельскохозяйственных животных. — Ставрополь, 1997. — С. 18–19.
54. Тарасенок, Н. И. Изучение изменчивости *Erysipelotrix insidiosa* (*Erysipelotrix rhusiopathiae*) : дис. канд. вет. наук : 16.00.03 / Тарасенок Николай Иосифович. — Москва, 1975.
55. Татаринцев, Н. Т. Основные показатели качества оценки анатоксинов и инактивированных вакцин против бактериальных и вирусных болезней животных / Н. Т. Татаринцев, М. В. Нестифорова // Сборник научных трудов ВГНКИ. — Москва, 1996. — Т. 59. — С. 13–17.
56. Титов, Е. И. Новые подходы в производстве эмульгированных мясных продуктов / Е. И. Титов, Е. В. Мансветова // Пищевая промышленность. — 2009. — № 7.
57. Трухманов, Б. Г. Ассоциированная и комплексная вакцинация. Итоги и перспективы / Б. Г. Трухманов // Комплексная вакцинация в интенсивном животноводстве и её экономическая эффективность. — 1983. — С. 5–55.
58. Тутов, И. К. Антигены, основные свойства и роль в формировании иммунного ответа / И. К. Тутов // Вестник ветеринарии. — 1998. — № 4 (10). — С. 41–48.
59. Фролова, О. Н. Совершенствование диагностики и профилактики парвовирусной инфекции свиней : дис. канд. вет. наук : 16.00.03 / Фролова Оксана Николаевна. — 2006.

60. Хоулт Дж. Определитель бактерий Берджи : в 2 т. / Дж. Хоулт, Н. Криг ; пер. с англ. под ред. акад. РАН Г. А. Заварзина. — 9-е изд. — Москва : Мир, 1997.
61. Черкинский, С. Н. К вопросу о механизме бактерицидного действия γ -излучения / С. Н. Черкинский, В. А. Рябченко // Гигиена и санитария. — 1968. — № 5.
62. Черникова, М. И. Вакцины против гриппа с иммуноадьювантами: данные прямых сравнительных исследований / М. И. Черникова, Ю. М. Васильев // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2015. — № 5.
63. Чистова, З. Я. Использование димера этиленимина для инактивации вируса диареи крупного рогатого скота / З. Я. Чистова, Г. М. Мутанис, В. Н. Сюрин // Труды ВГНКИ ветеринарных препаратов. — 1980. — Т. 29. — С. 20–23.
64. Шерман, Ф. Эмульсии / Ф. Шерман. — Ленинград : Химия, 1972. — 448 с.
65. Шмельков, Е. В. Влияние различных типов адьювантов на эффективность вакцин против инфекционных болезней свиней : дис. канд. вет. наук : 06.02.02 / Шмельков Евгений Владимирович. — Москва, 2010.
66. Ahmed, D. A. A. / Evaluation of comparative effect between aluminum hydroxide gel and montanide (ISA 70) in potency and protection of locally prepared rabbit hemorrhagic disease virus 2 (RHDV2) vaccines in rabbits // D. A. A. Ahmed, Y. Sadiek, M. S. Eldin [et al.] // BMC Vet Res. — 2024. — Vol. 20, № 1. — Art. 407. — DOI: 10.1186/s12917-024-04239-w.
67. A. De Peyster, Encyclopedia of Toxicology / A. De Peyster // Reference Work. — 3rd ed. — 2014. — P. 442–445.
68. Balaji Swapnaa, S. / Encyclopedia of Toxicology. In 4 vol. Vol. 2 // S. Balaji Swapnaa, R. Neupane, A. K. Tiwari [et al.]. — 4th ed. — 2024. — P. 39–46.
69. Becker, M. / Unsere Rotlaufimpfstoffe, ein Rück- und Ausblick vom Standpunkt der Herstellung aus / M. Becker // Monatsch. f. Vet. Med. — 1960. — № 1.

70. Bender, J. S. / Erysipelothrix spp. genotypes, serotypes, and surface protective antigen types associated with abattoir condemnations // J. S. Bender, C. K. Irwin, H. G. Shen [et al.] // J Vet Diagn Invest. — 2011. — Vol. 23, № 1. — P. 139–142. — DOI: 10.1177/104063871102300126.
71. Benoit-Biancamano, M. O. / Aplasia cutis congenita (epitheliogenesis imperfecta) in swine: observations from a large breeding herd / M. O. Benoit-Biancamano, R. Drolet, S. D’Allaire // J Vet Diagn Invest. — 2006. — Vol. 18, № 6. — P. 573–579. — DOI: 10.1177/104063870601800608.
72. Berman, J. J. / Taxonomic Guide to Infectious Diseases // J. J. Berman. — 2012. — P. 61–63.
73. Borisenko, V. S. / Method of preparation of 1-(2-aminoethyl)-aziridina // V. S. Borisenko, V. K. Krotova, V. A. Bobylev [et al.]. — 1983.
74. Brody, N. I. / Studies on the control of antibody synthesis. Interaction of antigenic competition and suppression of antibody formation by passive antibody on the immune response / N. I. Brody, J. G. Walker, G. W. Siskind // J Exp Med. — 1967. — Vol. 126. — P. 81–89.
75. Brooke, C. J. Erysipelothrix rhusiopathiae: bacteriology, epidemiology and clinical manifestations of an occupational pathogen / C. J. Brooke, T. V. Riley // J Med Microbiol. — 1999. — Vol. 48, № 9. — P. 789–799.
76. Bouchard, P. / Toxicologic Pathology: Nonclinical Safety Assessment, 2nd Edition / P. Bouchard, J. A. Popp, J. F. Hardisty, C. Gopinath, P. S. Sahota. — CRC Press, 2018. — DOI: 10.1201/9780429504624.
77. Bushueva, N. B. Inactivation of Pasteurella and Salmonella in the manufacture of biological products / N. B. Bushueva, M. Ya. Yartsev // Veterinary Medicine. — 1997. — № 11. — P. 23–25.
78. Dedle, K. Die säurelöslichen Antigene von Erysipelothrix rhusiopathiae / K. Dedle // Monatsheft f. Vet Med. — 1949. — № 1.
79. Doyle, T. M. Immunisation contre la rouget du porc / T. M. Doyle // Ofic. Intern. D. Epizoot. — 1952. — T. 38.

80. Duffy, J. I. / Vaccine preparation techniques / J. I. Duffy. — New Jersey : Park Ridge, 1980. — P. 44–46.
81. Eamens, G. J. / Serotypes of *Erysipelothrix rhusiopathiae* in Australian pigs, small ruminants, poultry, and captive wild birds and animals / G. J. Eamens, M. J. Turner, R. E. Catt // Aust Vet J. — 1988. — Vol. 65, № 8. — P. 249–252.
82. Eriksson, H. Characterization of *Erysipelothrix rhusiopathiae* isolates from poultry, pigs, emus, the poultry red mite and other animals / H. Eriksson, D. S. Jansson, K. E. Johansson [et al.] // Vet Microb. — 2009. — Vol. 137. — P. 98–104.
83. Frontner, J. Neuere Ergebnisse der Rotlaufforschung / J. Frontner // Probl. D. Steigerung d. tierischen Production. Tagungsberichte № 8. — Berlin, 1957.
84. Gomez Ferreira Ligia / Formations of methyl radicals during the catalase-mediated oxidation of formaldehyde hydrazone / F. G. Ligia, A. Ohara // Carcinogenesis. Short communication. — 1991. — Vol. 12. — P. 1351–1353.
85. Guthner, O. Antagonism and synergy of antigens / O. Guthner // Bull. Organis. Mond. Sante. — 1956. — Vol. 13, № 3. — P. 479–489.
86. Guettet, M. Vet vaccinology. Avian vaccines / M. Guettet, G. Meulemans, H. Vindevogel, J. P. Duchatel. — Amsterdam : Netherlands, 1997. — P. 395–400.
87. Hariharan, H. An investigation of bacterial causes of arthritis in slaughter hogs / H. Hariharan, J. MacDonald, B. Carnat [et al.] // Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. — 1992. — Vol. 4, № 1. — P. 28–30. — DOI: 10.1177/104063879200400107.
88. Heck, H. A. Biochemical toxicology of formaldehyde / H. A. Heck, M. Casanova-Schmitz // J Biol Chem. — 1983. — Vol. 1. — P. 155–189.
89. Integrated Taxonomic Information System. Report. — URL: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=956395#null (дата обращения: 15.08.2026).
90. Joo, H. S. Serological responses in pig vaccinated with inactivated porcine parvovirus / H. S. Joo, R. H. Jonson // Aust Vet J. — 1977. — № 11. — P. 550–552.

91. Kalashnikov, N. V. Features of bacterial damage by formaldehyde / N. V. Kalashnikov // Molecular Genetics, Microbiology and Virology. — 1986. — № 6. — P. 35–41.
92. Kitajima, T. Protective effect of NaOH extracted *Erysipelothrix rhusiopathiae* vaccine in pigs / T. Kitajima, E. Oishi, K. Amimoto [et al.] // Journal of Veterinary Medical Science. — 1998. — Vol. 60, № 1. — P. 9–14.
93. Kostina, G. I. On the question of the mechanisms of chemical inactivation of microorganisms / G. I. Kostina // ZHMEI. — 1981. — № 8. — P. 25–32.
94. Kolychev, N. M. The causative agent of porcine erysipelas / N. M. Kolychev, R. G. Gosmanov // Veterinary Microbiology and Mycology : textbook. — St. Petersburg : Lan, 2014. — 624 p.
95. Kucsera, G. Proposal for standardization of the designations used for serotypes of *Erysipelothrix rhusiopathiae* (Migula) Buchanan / G. Kucsera // Int J Syst Bacteriol. — 1973. — Vol. 23. — P. 184–188. — DOI: 10.1099/00207713-23-2-184.
96. Laskavy, V. N. Formaldehyde: metabolism, antibacterial, therapeutic and immunomodulatory properties / V. N. Laskavy, V. T. Nocturnal, B. V. Violin // Veterinary Medicine and Pharmacology. Agricultural Science. — 2005. — № 10. — P. 21–25.
97. Liu, J. J. Current approaches to vaccine preparation / J. J. Liu, A. Cepica // Can Vet J. — 1990. — Vol. 31. — P. 181–190.
98. Matveev, V. E. Scientific foundations of microbiological technology: kinetics of development and inactivation of microbial populations / V. E. Matveev. — Moscow : Agropromizdat, 1985. — 224 p.
99. Mauldin, E. A. Integumentary system / E. A. Mauldin, J. Peters-Kennedy // In: Maxie M. G. (Ed.). Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals. — 6th ed. — Vol. 1. — Elsevier, St Louis, 2016. — P. 509–736.
100. McNeil, M. Serotypes and Spa types of *Erysipelothrix rhusiopathiae* isolates from British pigs (1987 to 2015) / M. McNeil, P. F. Gerber, J. Thomson [et al.] // The

Veterinary Journal. — 2017. — Vol. 225. — P. 13–15. — DOI: 10.1016/j.tvjl.2017.04.012.

101. Mengeling, W. L. Efficacy of inactivated virus vaccine for prevention of porcine parvovirus-induced reproductive failure / W. L. Mengeling, T. T. Brown, P. S. Paul [et al.] // American Journal of Veterinary Research. — 1979. — Vol. 40, № 2. — P. 204–207.

102. Ogawa, Y. Identification of the chromosomal region essential for serovar-specific antigen and virulence of serovar 1 and 2 strains of *Erysipelothrix rhusiopathiae* / Y. Ogawa, K. Shiraiwa, S. Nishikawa [et al.] // Infection and Immunity. — 2018. — Vol. 86, № 8. — Art. e00324-18. — DOI: 10.1128/IAI.00324-18.

103. Opriessnig, T. Development and validation of an immunohistochemical method for rapid diagnosis of swine erysipelas in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue samples / T. Opriessnig, J. S. Bender, P. G. Halbur // Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. — 2010. — Vol. 22, № 1. — P. 86–90.

104. Opriessnig, T. Comparison of conventional direct and enrichment culture methods for *Erysipelothrix* spp. from experimentally and naturally infected swine / T. Opriessnig, J. S. Bender, P. G. Halbur // Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. — 2010. — Vol. 22, № 1. — P. 86–90.

105. Opriessnig, T. Erysipelas / T. Opriessnig, T. A. Coutinho // Diseases of Swine / ed. by J. J. Zimmerman, L. A. Karriker, A. Ramirez [et al.]. — 11th ed. — Hoboken : Wiley-Blackwell, 2019. — P. 835–843.

106. Opriessnig, T. *Erysipelothrix* Spp.: past, present, and future directions in vaccine research / T. Opriessnig, T. Forde, Y. Shimoji // Frontiers in Veterinary Science. — 2020. — Vol. 7. — Art. 174. — DOI: 10.3389/fvets.2020.00174.

107. Opriessnig, T. Erysipelas / T. Opriessnig, R. L. Wood // Diseases of Swine / ed. by J. J. Zimmerman, L. A. Karriker, A. Ramirez [et al.]. — Ames : Wiley-Blackwell, 2012. — P. 835–843.

108. Pereira, P. R. Anatomopathological aspects and the use of immunohistochemistry in slaughter pigs with cutaneous lesions of erysipelas /

P. R. Pereira, C. De Lorenzo, B. C. Lopes [et al.] // Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science. — 2022.

109. Pomaranski, E. K. Characterization of spaC-type *Erysipelothrix* sp. isolates causing systemic disease in ornamental fish / E. K. Pomaranski, S. R. Reichley, R. Yanong [et al.] // Journal of Fish Diseases. — 2018. — Vol. 41, № 1. — P. 49–60.

110. Quinn, P. J. *Erysipelothrix rhusiopathiae* / P. J. Quinn, B. K. Markey, F. C. Leonard [et al.] // Veterinary Microbiology and Microbial Disease. — 2nd ed. — 2011. — P. 369–376.

111. Rhodes, C. Review of Diseases of Swine, 8th ed. / C. Rhodes // The Canadian Veterinary Journal. — 2000. — Vol. 41, № 2. — P. 145–146. — PMCID: PMC1476274.

112. Semin, Yu. A. Interaction of formaldehyde with nucleotides and DNA in the presence of amino acids and proteins : abstract of diss. ... cand. biol. sci. / Yu. A. Semin. — Moscow, 1989. — 39 p.

113. Shankar, B. P. Pathology of erysipelas infection in piglets / B. P. Shankar, S. Chandan, H. S. Madhusudan, D. Ranjith // Veterinary World. — 2009. — Vol. 2, № 6. — P. 234–235.

114. Sheenan, R. Title 9 – Animals and Animal Products, Chapter I (Parts 1–99) / R. Sheenan, L. L. Jones // Code of Federal Regulations. — Washington : U.S. Government Printing Office, 1992. — P. 65–789.

115. Stazi, M. A new Montanide™ Seppic IMS1313-adjuvanted autogenous vaccine as a useful emergency tool to resolve a *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar abortus equi abortion outbreak in mares / M. Stazi, M. Pellegrini, E. Rampacci [et al.] // Open Veterinary Journal. — 2022. — Vol. 12, № 2. — P. 303–307. — DOI: 10.5455/OVJ.2022.v12.i2.19. — PMID: 35603068; PMCID: PMC9109840.

116. Takahashi, T. *Erysipelothrix tonsillarum* sp. nov. isolated from tonsils of apparently healthy pigs / T. Takahashi, T. Fujisawa, Y. Benno [et al.] // International Journal of Systematic Bacteriology. — 1987. — Vol. 37. — P. 166–168.

117. Vaacamp, H. Parvovirus in pigs: occurrence and prevention / H. Vaacamp, F. Berndsen, C. Augustijn [et al.] // Tijdschrift voor Diergeneeskunde. — 1984. — № 20. — P. 805–814.
118. Van Doorn, E. Safety and tolerability evaluation of the use of Montanide ISATM51 as vaccine adjuvant: a systematic review / E. Van Doorn, H. Liu, A. Huckriede, E. Hak // Human Vaccines & Immunotherapeutics. — 2016. — Vol. 12, № 1. — P. 159–169. — DOI: 10.1080/21645515.2015.1071455. — PMID: 26378866; PMCID: PMC4962750.
119. Wang, Q. *Erysipelothrix rhusiopathiae* / Q. Wang, B. J. Chang, T. V. Riley // Veterinary Microbiology. — 2010. — Vol. 140, № 3–4. — P. 405–417. — DOI: 10.1016/j.vetmic.2009.08.012. — PMID: 19733019.
120. Wellmann, G. Die Übertragung des Schweinerotlaufs durch die Saugant der gemeinen Stechfliege (*Stomoxys calcitrans*) und ihre epidemiologische Bedeutung / G. Wellmann // Berliner und Münchner Tierärztliche Wochenschrift. — 1949. — № 4.
121. Wood, R. L. Isolation of previously unreported serotypes of *Erysipelothrix rhusiopathiae* from swine / R. L. Wood, D. R. Haubrich, R. Harrington // American Journal of Veterinary Research. — 1978. — Vol. 39, № 11. — P. 1958–1961.
122. Wood, R. L. Erysipelas / R. L. Wood, L. M. Henderson // Diseases of Swine / ed. by B. E. Straw, J. J. Zimmerman, S. D’Allaire, D. J. Taylor. — 9th ed. — Ames : Iowa State University Press, 2006. — P. 629–638.
123. Wood, R. L. Serotypes of *Erysipelothrix rhusiopathiae* isolated from swine and from soil and manure of swine pens in the United States / R. L. Wood, R. Harrington, Jr. // American Journal of Veterinary Research. — 1978. — Vol. 39, № 10. — P. 1833–1840.
124. Zimmerman, J. J. Diseases of Swine / J. J. Zimmerman, R. E. Burrough, L. A. Karriker [et al.]. — 12th ed. — Hoboken : John Wiley & Sons, 2026.

8. ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1



Россельхознадзор

**федеральное государственное бюджетное учреждение
«Федеральный центр охраны здоровья животных»
(ФГБУ «ВНИИЗЖ»)**

улица Гвардейская, дом 6, микрорайон Юрьевец, город Владимир, Владимирская область, Россия, 600901
тел.: (4922) 26-06-14, т. ф.: (4922) 26-38-77, e-mail: arriah@fsvps.gov.ru, сайт: www.arriah.ru
ОКПО: 00495527, ОГРН: 1023301283720, ИНН/КПП: 3327100048/332701001

« 06 » 03 2024 г.

СПРАВКА № 703

**о депонировании штамма бактерии «*Erysipelothrix rhusiopathiae* БД-23»
для целей патентной процедуры**

Форма депонирования: «Национальное патентное депонирование».

Авторы штамма: Д.А. Бирюченков, Н.Д. Балахнин, А.А. Фроловцева, Е.П. Баборенко, Н.Б. Шадрова, М.В. Бирюченкова, А.М. Тимина.

Депозитор: ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»).

Изолят бактерии был выделен в ФГБУ «ВНИИЗЖ» в 2023г. из проб патологического материала, отобранного от свиней в ООО АПХ «Дороники» находящееся по адресу п. Дороники, Кировская обл., РФ.

Штамм «*Erysipelothrix rhusiopathiae* БД-23» получен в ФГБУ «ВНИИЗЖ» в 2023 г. при проведении научно-исследовательской работы. Штамм адаптирован к репродукции на питательных средах, содержащих сердечно-мозговой бульон.

Штамм предложен в качестве производственно-контрольного.

Таксономия бактерии: домен – Bacteria, тип – Bacillota, класс – Erysipelotrichia, порядок – Erysipelotrichales, семейство – Erysipelotrichaceae, род – Erysipelothrix, вид – Erysipelothrix rhusiopathiae.

Депозитарий: Всероссийская государственная коллекция экзотических типов вируса ящура и других патогенов животных (ГКШМ) ФГБУ «ВНИИЗЖ» (600901, Россия, Владимирская область, г. Владимир, мкр. Юрьевец, ул. Гвардейская, д.6).

Регистрационный номер: № 703 - ГКШМ ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Дата депонирования штамма: 03.03.2023 г.

Срок хранения штамма в депозитории: до 02.2033 г.

Начальник службы безопасности ФГБУ «ВНИИЗЖ»

С.Б. Комолёнков

И.о. руководителя Всероссийской государственной коллекции экзотических типов вируса ящура и других патогенов животных ФГБУ «ВНИИЗЖ»

КОПИЯ ВЕРН
УЧЕНЫЙ СЕКРЕТАРЬ
ПРОХВАТИЛОВА Л.





Россельхознадзор

**федеральное государственное бюджетное учреждение
«Федеральный центр охраны здоровья животных»
(ФГБУ «ВНИИЗЖ»)**

улица Гвардейская, дом 6, микрорайон Юрьевец, город Владимир, Владимирская область, Россия, 600901
тел.: (4922) 26-06-14, т./ф.: (4922) 26-38-77, e-mail: arriah@fsvps.gov.ru, сайт: www.arriah.ru
ОКПО: 00495527, ОГРН: 1023301283720, ИНН/КПП: 3327100048/332701001

« 10 » 03 2024 г.

**СПРАВКА № 711 - деп / 23
о депонировании штамма бактерии «*Erysipelothrix rhusiopathiae* M-2»
для целей патентной процедуры**

Форма депонирования: «Национальное патентное депонирование».

Авторы штамма: Д.А. Бирюченков, Н.Д. Балахнин, А.А. Фроловцева, Е.П. Баборенко, Н.Б. Шадрова, М.В. Бирюченкова, А.М. Тимина.

Депозитор: ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»).

Штамм был привезен в ФГБУ «ВНИИЗЖ» в 2023 г. из международной коллекции штаммов.

Штамм адаптирован к репродукции на питательных средах, содержащих 1,5% агар на основе сердечно-мозгового бульона.

Штамм предложен в качестве производственно-контрольного.

Таксономия бактерии: домен – Bacteria, тип – Bacillota, класс – Erysipelotrichia, порядок – Erysipelotrichales, семейство – Erysipelotrichaceae, род – Erysipelothrix, вид – Erysipelothrix rhusiopathiae.

Депозитарий: Всероссийская государственная коллекция экзотических типов вируса ящура и других патогенов животных (ГКШМ) ФГБУ «ВНИИЗЖ» (600901, Россия, Владимирская область, г. Владимир, мкр. Юрьевец, ул. Гвардейская, д.6).

Регистрационный номер: № 711 - деп / 23 - ГКШМ ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Дата депонирования штамма: 07.03.2023 г.

Срок хранения штамма в депозитории: до 02.2033 г.

Начальник службы безопасности ФГБУ «ВНИИЗЖ»

С.Б. Комолёнков

И.о. руководителя Всероссийской государственной коллекции экзотических типов вируса ящура и других патогенов животных ФГБУ «ВНИИЗЖ»

Козлов

КОПИЯ В
УЧЁНЫЙ СЕК
ПРОХВАТИЛОВА



УЧЕБНЫЙ ЭКЗЕМПЛЯР № 1

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ»
(ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

СОГЛАСОВАНО

Заместитель директора по НИР
«ФГБУ «ВНИИЗЖ»

И.А. Чвала

«16» октября 2023 г.

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель руководителя
службы качества «ФГБУ «ВНИИЗЖ»

А.В. Константинов

«16» октября 2023 г.



СТАНДАРТ ФГБУ «ВНИИЗЖ»

ШТАММ БАКТЕРИИ «Erysipelothrix rhusiopathiae БД-23»
ПРОИЗВОДСТВЕННО-КОНТРОЛЬНЫЙ.

МЕТОДЫ ИЗГОТОВЛЕНИЯ И КОНТРОЛЯ ПОСЕВНЫХ
МАТЕРИАЛОВ

СТО 00495527-0482-2023

Владимир
2023

КОПИЯ ВЕ
УЧЕБНЫЙ СЕКРЕ
ПРОХВАТИЛОВА

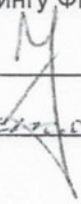


УЧЁТНЫЙ ЭКЗЕМПЛЯР №1

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ»
(ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

СОГЛАСОВАНО

Заместитель директора по НИР
и мониторингу ФГБУ «ВНИИЗЖ»

 И.А. Чвала

«16» сентября 2023 г.

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель руководителя службы
качества ФГБУ «ВНИИЗЖ»



А.В. Константинов

«20» 23 г.

СТАНДАРТ ФГБУ «ВНИИЗЖ»

**ШТАММ «М-2» ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE.
МЕТОДЫ ИЗГОТОВЛЕНИЯ И КОНТРОЛЯ ПОСЕВНЫХ
МАТЕРИАЛОВ**

Технические условия

СТО 00495527-0491-2023

Владимир
2023

КОПИЯ
УЧЁНЫЙ
ПРОХВАТ



УЧЕБНЫЙ ЭКЗЕМПЛЯР №1

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ»
(ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

НОРМАТИВНЫЙ ДОКУМЕНТ

СТАНДАРТ
ФГБУ «ВНИИЗЖ»

СТО 00495527-0495-2025

**ВАКЦИНА ПРОТИВ РОЖИ СВИНЕЙ
ИНАКТИВИРОВАННАЯ ЭМУЛЬСИОННАЯ****«ВНИИЗЖ-ЭризеВак»****Технические условия**

Владимир
2025



УЧЕТНЫЙ ЭКЗЕМПЛЯР № 1

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ»
(ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

СОГЛАСОВАНО
Заместитель Руководителя
Федеральной службы по
ветеринарному и фитосанитарному
надзору



К.А. САВЕНКОВ

09 ИЮЛ 2025



Заместитель Руководителя
Федерального центра охраны здоровья животных
(ФГБУ ВНИИЗЖ)

А.В. Константинов

«17» июля 2025 г.

НОРМАТИВНЫЙ ДОКУМЕНТ

СТАНДАРТ ФГБУ «ВНИИЗЖ»

ВАКЦИНА ПРОТИВ РОЖИ И ПАРВОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ
СВИНЕЙ ИНАКТИВИРОВАННАЯ ЭМУЛЬСИОННАЯ

«ВНИИЗЖ–ЭриПВИС»

СТО 00495527-0505-2025

Технические условия

Владимир
2025





ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ВETERИНАРНОМУ И ФИТОСАНИТАРНОМУ НАДЗОРУ

**Регистрационное удостоверение
лекарственного препарата для ветеринарного применения**

№ 007361

Номер регистрационного удостоверения: _____
12-1-15.25-5350 № ПВР-1-15.25/04111

Дата государственной регистрации: « 09 » _____ июля 20 25 г.

Наименование и адрес держателя или владельца регистрационного удостоверения
лекарственного препарата: **ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ "ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ
ЖИВОТНЫХ" 600901, Владимирская обл., г. Владимир, мкр. Юрьевец**

Наименование и адрес юридического лица - разработчика лекарственного препарата:
**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
"ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ" 600901,
Владимирская обл., г. Владимир, мкр. Юрьевец**

Торговое наименование лекарственного препарата: **ВНИИЗЖ-ЭризеВак**

Международное непатентованное, или группировочное, или химическое
наименование лекарственного препарата: **Вакцина против рожи свиней
инактивированная эмульсионная**

Лекарственная форма: **эмульсия для инъекций**

Дозировка: **100 см³ (50 прививных доз)**

Регистрационное удостоверение выдано бессрочно: сроком действия 5 лет
(нужное подчеркнуть)

Заместитель Руководителя _____ К.А. Савенков
(должность) (Ф.И.О.)

М.П.

**КОПИЯ
УЧЕБНО-НАУЧНОГО
ПРОХВАТА**





ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ВETERИНАРНОМУ И ФИТОСАНИТАРНОМУ НАДЗОРУ

Регистрационное удостоверение
лекарственного препарата для ветеринарного применения

№ 007362

Номер регистрационного удостоверения: _____

12-1-15.25-5348 №ПВР-1-15.25/04110

Дата государственной регистрации: « 09 » _____ июля 20 25 г.

Наименование и адрес держателя или владельца регистрационного удостоверения
лекарственного препарата: **ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ "ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ
ЖИВОТНЫХ" 600901, Владимирская обл., г. Владимир, мкр. Юрьевец**

Наименование и адрес юридического лица - разработчика лекарственного препарата:
**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
"ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ" 600901,
Владимирская обл., г. Владимир, мкр. Юрьевец**

Торговое наименование лекарственного препарата: **ВНИИЗЖ-ЭриПВИС**

Международное непатентованное, или группировочное, или химическое
наименование лекарственного препарата: **Вакцина против рожи и
парвовирусной инфекции свиней инактивированная эмульсионная**

Лекарственная форма: **эмульсия для инъекций**

Дозировка: **100 см³ (50 прививных доз)**

Регистрационное удостоверение выдано бессрочно, со сроком действия 5 лет
(нужное подчеркнуть)

Заместитель Руководителя _____ К.А. Савенков
(должность) (Ф.И.О.)



М.П.

КОПИЯ
УЧЕТНОЙ КАРТЫ
ПРОХОДИТЕЛЯ

АО «ОПЦИОН», Москва, 2024 г., «Б», ТЗ № 703.

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ
№ 2860278

**Вакцина против рожи и парвовирусной инфекции
свиней инактивированная эмульсионная**

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное учреждение "Федеральный центр охраны здоровья животных" (ФГБУ "ВНИИЗЖ") (RU)*

Авторы: *Бирюченков Дмитрий Анатольевич (RU),
Баборенко Елена Павловна (RU), Фроловцева Анна
Александровна (RU), Балахнин Никита Денисович (RU),
Андреева Светлана Владимировна (RU)*

Заявка № 2025122833

Приоритет изобретения 19 августа 2025 г.

Дата государственной регистрации

в Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 15 апреля 2026 г.

Срок действия исключительного права
на изобретение истекает 19 августа 2045 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Ю. С. Зубов

КОПИЯ
ученый
ПРОЧЕТИ



Форма № 94 ИЗ,ПМ,ПО-2016

**Федеральная служба по интеллектуальной собственности
Федеральное государственное бюджетное учреждение**



**«Федеральный институт промышленной собственности»
(ФИПС)**

Бережковская наб., д. 30, корп. 1, Москва, Г-59, ГСП - 3, 125993

Телефон (8-499) 240-60-15 Факс (8-495) 531-63-18

УВЕДОМЛЕНИЕ О ПРИЕМЕ И РЕГИСТРАЦИИ ЗАЯВКИ

13.04.2026 <i>Дата поступления (дата регистрации)</i>	W26024212 <i>Входящий №</i>	2026111191 <i>Регистрационный №</i>
---	---------------------------------------	---

ДАТА ПОСТУПЛЕНИЯ (дата регистрации) оригиналов документов заявки		(21) РЕГИСТРАЦИОННЫЙ №	ВХОДЯЩИЙ №
		(85) ДАТА ПЕРЕВОДА международной заявки на национальную фазу	
☐ (86) предварительный номер международной заявки в сфере международной почты, устанавливающий международный индекс ☐ (87) номер и дата международной публикации международной заявки ☐ (96) номер европейской заявки в сфере патентов ☐ (97) номер и дата публикации европейской заявки		АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ (почтовый адрес, факс или контактный или телекоммуникационный адрес) 600901, RU, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевцы, Ручьева Ольга Ивановна (600901, RU, Rossiya, g. Vladimir, mkr. Yuryevets) Телефон: +74922260753 Факс: Адрес электронной почты: ruchnova@aria.ru АДРЕС ДЛЯ СЕКРЕТНОЙ ПЕРЕПИСКИ (указывается при подаче заявки на секретное изобретение)	
ЗАЯВЛЕНИЕ о выдаче патента на изобретение		В Федеральную службу по интеллектуальной собственности Бережковская наб., д. 30, корп. 1, г. Москва, Г-59, ГСП-3, 125993, Российская Федерация	
(54) НАЗВАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ Штамы «Erysipelothrix rhusiopathiae БД-23» бактерий вида Erysipelothrix rhusiopathiae для изготовления биопрепаратов для специфической профилактики рожи свиней			
(71) ЗАЯВИТЕЛЬ (фамилия, имя, отчество (последнее – при наличии) физического лица или наименование юридического лица (согласно учредительному документу, место жительства или место нахождения, название страны и почтовый индекс) Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ ВНИИЗЖ) (Federalnoye gosudarstvennoye budzhetnoye uchrezhdeniye «Federalnyi tsentr okhrany zdorovya zhivotnykh» (FGBU VNIIZZh)) 600901, г. Владимир, мкр. Юрьевцы, ул. Гвардейская, д. 6 (600901, g. Vladimir, mkr. Yuryevets, ul. Gvardeyskaya, d. 6)		ИДЕНТИФИКАТОРЫ ЗАЯВИТЕЛЯ ОГРН 1 02 33 01 28372 0 КПП 33 27 01 001 ИНН 33 27 10004 8 СНИЛС ДОКУМЕНТ (тип, серия, номер)	
☐ изобретение создано за счет средств федерального бюджета Заявитель является: ☐ государственным заказчиком ☐ муниципальным заказчиком исполнитель работ (указать наименование) ☐ исполнителем работ по: ☐ государственному контракту ☐ муниципальному контракту ☐ соглашению о предоставлении субсидии ☐ гранту ☐ государственному заданию ☐ муниципальному заданию заказчик работ (указать наименование) Контракт (соглашение, договор) от № _____ В соответствии с условиями государственного контракта (договора, соглашения) права на созданные результаты интеллектуальной деятельности принадлежат: ☐ Российской Федерации, от имени которой выступает государственный заказчик ☐ Российской Федерации, от имени которой выступает государственный заказчик, и исполнитель совместно ☐ исполнитель ☐ иное		КОД СТРАНЫ (если он установлен) RU	

**КОПИЯ
УЧЕБНОЙ
ПРОХВАТКИ**



Общее количество документов в листах	35	Лицо, зарегистрировавшее заявку
Из них: - количество листов комплекта изображений изделия (для промышленного образца)		Автоматизированная система
Количество платежных документов	1	
Сведения о состоянии делопроизводства по заявкам размещаются в Открытых реестрах на сайте ФИПС по адресу: www.fips.ru/registers-web		

ДАТА ПОСТУПЛЕНИЯ (дата регистрации) оригиналов документов заявки	(21) РЕГИСТРАЦИОННЫЙ №	ВХОДЯЩИЙ №
(85) ДАТА ПЕРЕВОДА международной заявки на национальную фазу		
☐ (86) (регистрационный номер международной заявки и дата международной подачи, установленные получающим ведомством) ☐ (87) (номер и дата международной публикации международной заявки) ☐ (96) (номер евразийской заявки и дата ее подачи) ☐ (97) (номер и дата публикации евразийской заявки)	АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ (почтовый адрес, фамилия и инициалы или наименование адресата) 600901, RU, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, Ручнова Ольга Ивановна (600901, RU, Rossiya, g. Vladimir, mkr. Yuryevets) Телефон: +74922260753 Факс: Адрес электронной почты: ruchnova@arriah.ru АДРЕС ДЛЯ СЕКРЕТНОЙ ПЕРЕПИСКИ (заполняется при подаче заявки на секретное изобретение)	
ЗАЯВЛЕНИЕ о выдаче патента на изобретение	В Федеральную службу по интеллектуальной собственности Бережковская наб., д. 30, корп. 1, г. Москва, Г-59, ГСП-3, 125993, Российская Федерация	
(54) НАЗВАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ Штамм «Erysipelothrix rhusiopathiae БД-23» бактерии вида Erysipelothrix rhusiopathiae для изготовления биопрепаратов для специфической профилактики рожи свиней		
(71) ЗАЯВИТЕЛЬ (фамилия, имя, отчество (последнее – при наличии) физического лица или наименование юридического лица (согласно учредительному документу), место жительства или место нахождения, название страны и почтовый индекс) Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ ВНИИЗЖ) (Federalnoe gosudarstvennoe biudzhethnoe uchrezhdenie «Federalnyi tsentr okhrany zdorovia zhivotnykh» (FGBU VNIIZZh)) 600901, г. Владимир, мкр. Юрьевец, ул. Гвардейская, д. 6 (600901, g. Vladimir, mkr. Yuryevets, ul. Gvardeyskaya, d. 6)	ИДЕНТИФИКАТОРЫ ЗАЯВИТЕЛЯ ОГРН 1 02 33 01 28372 0 КПП 33 27 01 001 ИНН 33 27 10004 8 СНИЛС ДОКУМЕНТ (вид, серия, номер)	
☐ изобретение создано за счет средств федерального бюджета Заявитель является: ☐ государственным заказчиком ☐ муниципальным заказчиком исполнитель работ (указать наименование) ☐ исполнителем работ по: ☐ государственному контракту ☐ муниципальному контракту ☐ соглашению о предоставлении субсидии ☐ гранту ☐ государственному заданию ☐ инициативному заданию заказчик работ (указать наименование)	КОД СТРАНЫ (если он установлен) RU 	
Контракт (соглашение, договор) от № В соответствии с условиями государственного контракта (договора, соглашения) права на созданные интеллектуальной деятельности принадлежат: ☐ Российской Федерации, от имени которой выступает государственный заказчик ☐ Российской Федерации, от имени которой выступает государственный заказчик, и исполнителю совместно ☐ исполнителю ☐ иное		

(74) ПРЕДСТАВИТЕЛЬ (ПРЕДСТАВИТЕЛИ) ЗАЯВИТЕЛЯ <i>(указываются фамилия, имя, отчество (последнее – при наличии) лица, назначенного заявителем своим представителем для ведения дел по получению патента от его имени в Федеральной службе по интеллектуальной собственности или являющееся таковым в силу закона)</i>	☐ патентный поверенный ☒ представитель по доверенности ☐ представитель по закону
Фамилия, имя, отчество (последнее – при наличии) Ручнова Ольга Ивановна Адрес г. Владимир, мкр. Юрьевец, ул. Гвардейская, д. 6 Срок представительства (если к заявлению приложена доверенность представителя заявителя, срок может не указываться)	Телефон: +74922260753 Факс: Адрес электронной почты: ruchnova@arriah.ru Регистрационный номер патентного поверенного
(72) АВТОР <i>Фамилия, имя, отчество (последнее – при наличии)</i>	Адрес места жительства, включающий официальное наименование страны и ее код
Бирюченков Дмитрий Анатольевич (Biriuchenkov Dmitrii Anatolevich)	RU, Россия, 600022, г. Владимир, пр-т Ленина, д. 62, кв. 115 (RU, 600022, g. Vladimir, pr-t Lenina, d. 62, kv. 115)
☐ Я (мы) <i>(фамилия, имя, отчество (последнее – при наличии))</i> Прошу (просим) не упоминать меня (нас) как автора (авторов) при публикации сведений ☐ о заявке на выдачу патента на изобретение ☐ о выдаче патента ☐ Просьба автора (авторов) не упоминать его (их) при публикации прилагается <i>(отмечается при подаче заявки на выдачу патента на изобретение в электронном виде)</i>	
Балахнин Никита Денисович (Balakhnin Nikita Denisovich)	RU, Россия, 142261, Московская обл., Серпуховский р-н, с. Липицы, д. 22, кв. 10 (RU, 142261, Moskovskaya obl., Serpukhovskiy r-n, s. Lipitsy, d. 22, kv. 10)
☐ Я (мы) <i>(фамилия, имя, отчество (последнее – при наличии))</i> Прошу (просим) не упоминать меня (нас) как автора (авторов) при публикации сведений ☐ о заявке на выдачу патента на изобретение ☐ о выдаче патента ☐ Просьба автора (авторов) не упоминать его (их) при публикации прилагается <i>(отмечается при подаче заявки на выдачу патента на изобретение в электронном виде)</i>	
Баборенко Елена Павловна (Baborenko Elena Pavlovna)	RU, Россия, 600015, г. Владимир, пр-т Ленина, д. 28, кв. 51 (RU, 600015, g. Vladimir, pr-t Lenina, d. 28, kv. 51)
☐ Я (мы) <i>(фамилия, имя, отчество (последнее – при наличии))</i> Прошу (просим) не упоминать меня (нас) как автора (авторов) при публикации сведений ☐ о заявке на выдачу патента на изобретение ☐ о выдаче патента ☐ Просьба автора (авторов) не упоминать его (их) при публикации прилагается <i>(отмечается при подаче заявки на выдачу патента на изобретение в электронном виде)</i>	
Фроловцева Анна Александровна (Frolovtseva Anna Aleksandrovna)	RU, Россия, 600017, г. Владимир, ул. Модорова, д. 5, кв. 3 (RU, 600017, g. Vladimir, ul. Modorova, d. 5, kv. 3)
☐ Я (мы) <i>(фамилия, имя, отчество (последнее – при наличии))</i> Прошу (просим) не упоминать меня (нас) как автора (авторов) при публикации сведений ☐ о заявке на выдачу патента на изобретение ☐ о выдаче патента ☐ Просьба автора (авторов) не упоминать его (их) при публикации прилагается <i>(отмечается при подаче заявки на выдачу патента на изобретение в электронном виде)</i>	



Андреева Светлана Владимировна (Andreeva Svetlana Vladimirovna)	RU, Россия, 600021, г. Владимир, ул. Красноармейская, д. 37, кв. 91 (RU, 600021, g. Vladimir, ul. Krasnoarmeyskaya, d. 37, kv. 91)
☐ Я (мы) (фамилия, имя, отчество (последнее – при наличии)) Прошу (просим) не упоминать меня (нас) как автора (авторов) при публикации сведений ☐ о заявке на выдачу патента на изобретение ☐ о выдаче патента ☐ Просьба автора (авторов) не упоминать его (их) при публикации прилагается (отмечается при подаче заявки на выдачу патента на изобретение в электронном виде)	
Спрыгин Александр Владимирович (Sprygin Aleksandr Vladimirovich)	RU, Россия, 600017, г. Владимир, ул. Октябрьский проспект, д. 36, кв.104 (RU, 600017, g. Vladimir, ul. Oktyabrskiy prospekt, d. 36, kv.104)
☐ Я (мы) (фамилия, имя, отчество (последнее – при наличии)) Прошу (просим) не упоминать меня (нас) как автора (авторов) при публикации сведений ☐ о заявке на выдачу патента на изобретение ☐ о выдаче патента ☐ Просьба автора (авторов) не упоминать его (их) при публикации прилагается (отмечается при подаче заявки на выдачу патента на изобретение в электронном виде)	
ПЕРЕЧЕНЬ ПРИЛАГАЕМЫХ ДОКУМЕНТОВ	
☒ описание изобретения	Количество листов в 1 экз. 20
☐ перечень последовательностей	Количество экземпляров 1
☒ формула изобретения (количество пунктов формулы <u>1</u>) (указать)	1 1
☒ чертеж (чертежи) и иные материалы, ☐ в том числе трехмерная модель изобретения в электронной форме фигуры чертежей, предлагаемые для публикации _____ (указать)	1 1
☒ реферат	1 1
☒ копия документа, подтверждающего уплату патентной пошлины (пошлин) (представляется по собственной инициативе заявителя)	2 1
☐ ходатайство о предоставлении права на освобождение от уплаты патентных пошлин или их уплату в уменьшенном размере	
☐ копия первой заявки (при испрашивании конвенционного приоритета)	
☐ перевод заявки на русский язык	
☒ доверенность	2 1
☐ просьба автора (авторов) не упоминать его (их) при публикации	
☒ другой документ (указать наименование документа)	1 1
Ходатайство о регистрации заявки	1 1
Копия справки о депонировании штамма	1 1
☒ дополнительные листы к настоящему заявлению	
ЗАЯВЛЕНИЕ НА ПРИОРИТЕТ (заполняется только при испрашивании приоритета более раннего, чем дата подачи заявки) Прошу установить приоритет изобретения по дате 1 ☐ подачи первой заявки в государстве – участнике Парижской конвенции по охране промышленной собственности (пункт 1 статьи 1382 Гражданского кодекса Российской Федерации (Собрание законодательства Российской Федерации, 2006, № 52, ст. 5496; 2014, № 11, ст. 1100) (далее – Кодекс) 2 ☐ поступления дополнительных материалов к более ранней заявке (пункт 2 статьи 1381 Кодекса) 3 ☐ подачи более ранней заявки (пункт 3 статьи 1381 Кодекса) 4 ☒ подачи/приоритета первоначальной заявки (пункт 4 статьи 1381 Кодекса), из которой выделена настоящая заявка	

КОПИЯ
УЧЕНЫЙ
ПРОХВАТИЛ



№ заявки	Дата испрашиваемого приоритета на основании указанной заявки	Код страны подачи (при испрашивании конвенционного приоритета)
2025122833	19.08.2025	

☐ Ссылка на вышеуказанную заявку № _____ приведена в качестве замены представления ☐ описания ☐ чертежей изобретения для установления даты подачи заявки

ХОДАТАЙСТВО ЗАЯВИТЕЛЯ
Прошу:
☐ осуществить публикацию сведений о заявке ранее установленного срока (пункт 1 статьи 1385 Кодекса)
☐ начать рассмотрение международной заявки ранее установленного срока (пункт 1 статьи 1396 Кодекса)
☐ провести экспертизу заявки на изобретение по существу (пункт 1 статьи 1386 Кодекса)
☐ выдать патент на изобретение на бумажном носителе (пункт 1 статьи 1393 Кодекса)

☒ Уплачена пошлина ☒ по подпункту 1.1. приложения №1 к Положению о патентных и иных пошлинах за совершение юридически значимых действий, связанных с патентом на изобретение, полезную модель, промышленный образец, с государственной регистрацией товарного знака и знака обслуживания, с государственной регистрацией и предоставлением исключительного права на географическое указание, наименование места происхождения товара, а также с государственной регистрацией отчуждения исключительного права на результат интеллектуальной деятельности или средство индивидуализации, залога исключительного права, предоставления права использования такого результата или такого средства по договору, перехода исключительного права на такой результат или такое средство без договора, утвержденному постановлением Правительства Российской Федерации от 10 декабря 2008 г. № 941 (Собрание законодательства Российской Федерации, 2008, № 51, ст. 6170; 2020, № 42, ст. 6639) (далее – Положение о пошлинах)

Сведения о плательщике (указывается фамилия, имя, отчество (последнее – при наличии) или наименование юридического лица)
Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

Идентификаторы плательщика, указываемые в документе, подтверждающем уплату пошлины:
(заполняется, если документ, подтверждающий уплату патентной пошлины, не прилагается к настоящему ходатайству)

☒ Для российского юридического лица: ИНН: 33 27 10004 8 КПП: 33 27 01 001	☐ Для иностранного юридического лица: ☐ КИО (если имеется): КПП (если имеется):
☐ Для российского индивидуального предпринимателя: ИНН:	☐ ИНН (если имеется): КПП (если имеется):
☐ Для российского физического лица: ИНН: СНИЛС:	☐ Для иностранного физического лица: ИНН: СНИЛС:

Серия, номер и вид документа, удостоверяющего личность плательщика:

Серия, номер и вид документа, удостоверяющего личность плательщика:
☒ Гражданство (по общероссийскому классификатору стран мира): RU ☐ Без гражданства

Заявителю известно, что в соответствии с пунктом 4 части 1 статьи 6 Федерального закона от 27 июля 2006 г. № 152-ФЗ «О персональных данных» (Собрание законодательства Российской Федерации, 2006, № 31, ст. 3451; 2020, № 17, ст. 2701) (далее – Федеральный закон «О персональных данных») Федеральная служба по интеллектуальной собственности осуществляет обработку персональных данных субъектов персональных данных, указанных в заявлении, в целях и объеме, необходимых для предоставления государственной услуги.

Заявитель подтверждает наличие согласия других субъектов персональных данных, указанных в заявлении (за исключением согласия представителя), на обработку их персональных данных, приведенных в настоящем заявлении, в Федеральной службе по интеллектуальной собственности в связи с предоставлением государственной услуги. Согласия оформлены в соответствии со статьей 9 Федерального закона «О персональных данных».

(заполняется только заявителями по российским заявкам)

Заявителю известно, что с информацией о состоянии делопроизводства по заявлению, в том числе о направленных заявителю документах, можно ознакомиться на сайтах Роспатента (rospatent.gov.ru) и Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный институт собственности» (www.fips.ru) в информационно-телекоммуникационной сети «Интернет».

Заявитель подтверждает достоверность информации, приведенной в настоящем заявлении.

КОПИЯ
УЧЕБНО-ПРОБНО



Сведения о лице, подписавшем документ: Ручнова Ольга Ивановна, Ведущий научный сотрудник, ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ "ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ"

Срок действия и серийный номер сертификата: 00D8FE838E3D7E5B9523D8EEAA78B7F5EA по 06.03.2027

Дата подписания электронной подписью: 13.04.2026

КОПИЯ В
УЧЁНЫЙ СЕК
ПРОХВАТИЛ

