

Изучение гуморального иммунитета собак при использовании антирабических инактивированных вакцин, изготовленных с применением адъювантов Montanide ISA 70 VG и GEL 01

А. Н. Балашов¹, М. И. Доронин², А. В. Борисов³, Д. А. Лозовой⁴, Д. В. Михалишин⁵, В. А. Стариков⁶

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

¹ ORCID 0000-0001-7597-6698, e-mail: balashov@arriah.ru

² ORCID 0000-0002-4682-6559, e-mail: doronin@arriah.ru

³ ORCID 0000-0001-9880-9657, e-mail: borisov@arriah.ru

⁴ ORCID 0000-0002-5983-7062, e-mail: lozovoy@arriah.ru

⁵ ORCID 0000-0003-1718-1955, e-mail: mihalishindv@arriah.ru

⁶ ORCID 0000-0002-9960-0887, e-mail: starikov@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Несмотря на все прилагаемые усилия, проблема бешенства в мире не теряет своей актуальности. Являясь острой природно-очаговой инфекцией, представляет огромную опасность как для животных, так и для человека. Ведущая роль в процессе передачи вируса бешенства человеку принадлежит заболевшим собакам, бродячие животные могут быть потенциальными источниками возбудителя бешенства, что повышает риск передачи смертельно опасного вируса человеку. Профилактика бешенства среди собак во всем мире осуществляется путем учета численности этого вида животных, их обязательной регулярной иммунизации и оценки эффективности вакцинации по уровню накопления антирабических вируснейтрализующих антител. Для формирования защитного уровня гуморального иммунитета у собак против бешенства ($\geq 0,5$ МЕ/см³) применяют инактивированные вакцины, полученные на основе различных штаммов вируса с использованием широкого спектра адъювантов, что позволяет получать вакцины с высокими показателями безопасности и эффективности для целевых видов животных. В статье представлены результаты исследования гуморального иммунитета у 20 беспородных собак на 21 сут после введения антирабических инактивированных вакцин из культурального вируса бешенства штамма «ВНИИЗЖ» с применением различных адъювантов. Представленные вакцины против бешенства, изготовленные с использованием масляного адъюванта Montanide ISA 70 VG и гелевого адъюванта Montanide GEL 01, были авирулентными, безвредными и индуцировали напряженный иммунитет у всех привитых животных. Вакцина на основе адъюванта Montanide ISA 70 VG при однократном введении в дозе 1,0 см³ способствует выработке вируснейтрализующих антирабических антител в 2,4 раза выше по сравнению с препаратом, полученным с использованием адъюванта Montanide GEL 01. Наиболее высокие титры антител против бешенства у собак составляли $48,1 \pm 3,7$ и $28,3 \pm 1,5$ МЕ/см³ и были отмечены при использовании антирабической инактивированной эмульсионной вакцины в дозах 3,0 и 1,0 см³ соответственно.

Ключевые слова: бешенство, инактивированная вакцина против бешенства, гуморальный иммунитет, антирабические вируснейтрализующие антитела, собаки.

Для цитирования: Балашов А. Н., Доронин М. И., Борисов А. В., Лозовой Д. А., Михалишин Д. В., Стариков В. А. Изучение гуморального иммунитета собак при использовании антирабических инактивированных вакцин, изготовленных с применением адъювантов Montanide ISA 70 VG и GEL 01. *Ветеринария сегодня*. 2020; 1 (32): 25–30. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-1-32-25-30.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Доронин Максим Игоревич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: doronin@arriah.ru.

Studies on humoral immunity in dogs after use of rabies inactivated vaccines formulated with Montanide ISA 70 VG and GEL 01 adjuvants

A. N. Balashov¹, M. I. Doronin², A. V. Borisov³, D. A. Lozovoy⁴, D. V. Mikhailishin⁵, V. A. Starikov⁶

FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"), Vladimir, Russia

¹ ORCID 0000-0001-7597-6698, e-mail: balashov@arriah.ru

² ORCID 0000-0002-4682-6559, e-mail: doronin@arriah.ru

³ ORCID 0000-0001-9880-9657, e-mail: borisov@arriah.ru

⁴ ORCID 0000-0002-5983-7062, e-mail: lozovoy@arriah.ru

⁵ ORCID 0000-0003-1718-1955, e-mail: mihalishindv@arriah.ru

⁶ ORCID 0000-0002-9960-0887, e-mail: starikov@arriah.ru

SUMMARY

Despite all the efforts made, the issue of rabies in the world does not lose its relevance. As an acute endemic infection, it poses a considerable danger to both animals and humans. The leading role in the transmission of rabies to humans belongs to diseased dogs; stray animals can be potential sources of rabies agent, which increases the risk of transmitting a deadly virus to humans. Rabies prevention in dogs around the world is carried out by counting the number of these animals, their mandatory routine immunization and evaluating the effectiveness of vaccination against the accumulation of rabies virus-neutralizing antibodies. Inactivated vaccines based on different viral strains formulated with a wide range of adjuvants are used to induce a protective level of humoral immunity against rabies in dogs (≥ 0.5 IU/cm³), which allows vaccines with high safety and effectiveness for the target animal species to be obtained. The article presents the results of the study of humoral immunity in 20 non-pedigree dogs 21 days after the administration of rabies inactivated vaccines based on culture rabies virus from ARRIAH strain formulated with various adjuvants. The presented rabies vaccines formulated with oil adjuvant Montanide ISA 70 VG and gel adjuvant Montanide GEL 01 were innocuous and safe and induced strong immunity in all vaccinated animals. The vaccine formulated with Montanide ISA 70 VG adjuvant in case of a single administration in the dose of 1.0 cm³ induces formation of rabies virus-neutralizing antibodies in the level of 2.4 times higher than the vaccine formulated with Montanide GEL 01 adjuvant. The highest levels of rabies antibodies in dogs were 48.1 ± 3.7 and 28.3 ± 1.5 IU/cm³ and were observed with the use of rabies inactivated emulsion vaccine in the doses of 3.0 and 1.0 cm³ respectively.

Key words: rabies, inactivated vaccine against rabies, humoral immunity, rabies virus-neutralizing antibodies, dogs.

For citation: Balashov A. N., Doronin M. I., Borisov A. V., Lozovoy D. A., Mikhailishin D. V., Starikov V. A. Studies on humoral immunity in dogs after use of rabies inactivated vaccines formulated with Montanide ISA 70 VG and GEL 01 adjuvants. *Veterinary Science Today*. 2020; 1 (32): 25–30. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-1-32-25-30.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

For correspondence: Maksim I. Doronin, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: doronin@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Бешенство (*Rabies*) занимает первоочередное место в ряде вирусных болезней человека и животных, является одним из самых опасных зоонозов, вызывая поражение центральной нервной системы, энцефаломелиты, параличи с неизбежным летальным исходом. Возбудитель принадлежит порядку *Mononegavirales*, семейству *Rhabdoviridae*, роду *Lyssavirus*, виду *Rabies lyssavirus* [1].

Бешенство представляет собой мировую проблему, которой уделяют особое внимание международные организации (ВОЗ, МЭБ, ФАО, GARC) и ветеринарные службы многих стран мира [2, 3]. Заболевание приводит к значительным затратам, которые связаны с гибелью животных, ликвидацией последствий вспышек болезни, проведением профилактических и карантинных мероприятий, регулированием численности диких плотоядных животных, отловом бродячих кошек и собак и осуществлением лабораторных исследований по постановке диагноза [4, 5]. По оценкам специалистов, ежегодный мировой экономический ущерб от бешенства составляет более 8,6 млрд долларов США [6].

Вирус легко распространяется, поэтому данное заболевание может приобретать размах эпизоотий. Большое количество природных очагов бешенства поддерживается преимущественно за счет диких плотоядных животных, однако возбудитель передается и домашним плотоядным животным, что требует повышенного внимания по причине их непосредственной близости к человеку [7]. Считается, что ведущая роль в процессе передачи вируса бешенства человеку принадлежит заболевшим собакам из-за их высокой чувствительности к вирусу, а также ряда свойственных им биологических и экологических особенностей (склонность формировать стаи, способность перемещаться на значительные расстояния и др.). Большинство случаев передачи бешенства от собак человеку связаны с попаданием вирусосодержащей слюны в нанесенные

при укусах раны [4, 8]. В настоящее время более половины населения Российской Федерации содержит дома этих животных. Вместе с тем острой является проблема безнадзорных собак, стаи которых стали обычным явлением в городах и поселках [7, 9]. Именно они могут быть потенциальными источниками возбудителя бешенства, что повышает риск передачи смертельно опасного вируса человеку.

Профилактика бешенства среди собак во всем мире осуществляется путем учета численности этого вида животных, их обязательной регулярной иммунизации и оценки эффективности вакцинации по уровню накопления антирабических вируснейтрализующих антител. Для формирования защитного уровня гуморального иммунитета у собак против бешенства ($\geq 0,5$ ME/cm³) [2] применяют инактивированные вакцины, полученные на основе различных штаммов вируса бешенства с использованием широкого спектра адъювантов, что позволяет получать вакцины с высокими показателями безопасности и эффективности для целевых видов животных [2, 5, 9, 10, 11].

Целью данной работы было изучение возможности защиты собак от бешенства за счет применения антирабических инактивированных вакцин, изготовленных на основе штамма «ВНИИЗЖ» вируса бешенства с использованием адъювантов Montanide ISA 70 VG и GEL 01.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вакцины. Экспериментальные серии антирабических инактивированных вакцин изготавливали из вируса бешенства штамма «ВНИИЗЖ», репродуцированного в суспензионной клеточной линии из почки новорожденного сирийского хомячка (ВНК-21). Инактивацию вируса бешенства проводили с использованием раствора аминоэтилэтиленимина (АЭЭИ). Очистку суспензии инактивированного антигена вируса от балластных белков проводили методом простой седиментации. Для

усиления иммунного ответа в состав вакцин включали масляный адъювант Montanide ISA 70 VG, состоящий из минерального масла и неионогенного эмульгатора, и гелевый адъювант Montanide GEL 01, основу которого составляет высокоочищенный мелкодисперсный полиакрилат натрия (SEPPIC, Франция) (табл. 1).

Лабораторные животные. В работе использовали беспородных собак массой 10–15 кг в количестве 30 гол., а также белых мышей массой 10–12 г в количестве 20 особей.

Все эксперименты на животных проводились в строгом соответствии с межгосударственными стандартами по содержанию и уходу за лабораторными животными ГОСТ 33216-2014 и ГОСТ 33215-2014, принятыми Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации, а также согласно требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях.

Иммунизация животных. Для проведения исследований всех собак разделили на 6 групп по 5 голов в каждой и вводили им препараты внутримышечно. Антирабической инактивированной сорбированной вакциной иммунизировали: животных первой группы (№ 1–5) однократно введением в цельном виде в дозе 1,0 см³, второй группы (№ 6–10) – в дозе 3,0 см³, третьей группы (№ 11–15) – двукратно по 1,0 см³ с интервалом между инокуляциями в 7 сут. Антирабическую эмульсионную вакцину вводили: собакам четвертой группы (№ 16–20) однократно в дозе 1,0 см³, пятой группы (№ 21–25) – в дозе 3,0 см³, шестой группы (№ 26–30) – двукратно по 1,0 см³ с интервалом между инокуляциями в 7 сут. (табл. 2).

Оценка полноты инактивации антигена вируса бешенства в культуре клеток. Полноту инактивации суспензии инактивированного вируса бешенства контролировали инокуляцией в монослойную перевиваемую клеточную линию ВНК-21 в течение трех последовательных пассажей с применением антирабического иммуноглобулина G, меченного флуоресцеинизотиоцианатом. В качестве положительного контроля использовали лиофильно высушенную суспензию неинактивированного вируса бешенства штамма «ВНИИЗЖ» с титром инфекционной активности 7,00 lg ККИД₅₀/см³. Отрицательным контролем служила лиофильно высушенная суспензия инактивированного вируса бешенства. Материал считали авирулентным, если ни в одном из трех последовательных пассажей не было обнаружено флуоресцентного свечения, специфичного для вируса бешенства [2].

Оценка безвредности антирабических инактивированных вакцин на белых мышях. Эмульсионную вакцину против бешенства перед введением белым мышам разрушали до выделения антигенной фазы. Для этого препарат подвергали трехкратному замораживанию и оттаиванию с последующим центрифугированием в течение 30 мин при 7000 г (диаметр ротора – 6 см, скорость – 10 000 об/мин). В результате процесса на дне пробирки осаждался антиген, который использовали для испытания путем интрацеребрального введения по 0,03 см³ десяти белым мышам.

Сорбированную вакцину разбавляли физиологическим раствором в 4 раза, полученную суспензию вводили интрацеребрально по 0,03 см³ десяти мышам [2].

За животными вели наблюдение в течение 21 сут. Вакцину считали безвредным препаратом, если все привитые животные в течение всего срока наблюдения

Таблица 1
Антирабические инактивированные вакцины для собак, изготовленные на основе штамма «ВНИИЗЖ» вируса бешенства с применением разных адъювантов

Table 1
Rabies inactivated vaccines for dogs made of ARRIAH strain of rabies virus formulated with different adjuvants

№ п/п	Тип вакцины	Адъювант	Соотношение адъювант/антиген	Тип эмульсии
1	инактивированная сорбированная	Montanide GEL 01	10/90	–
2	инактивированная эмульсионная	Montanide ISA 70	70/30	W/O

W/O – вода/масло (обратная эмульсия).

оставались клинически здоровыми, без проявления признаков, характерных для бешенства [2].

Исследование безвредности вакцины на собаках. Для анализа препаратов на безвредность 10 животным из второй и пятой групп (№ 6–10 – для сорбированной вакцины, № 21–25 – для эмульсионной вакцины) в мышцы шеи вводили вакцины в тройной дозе (по 3,0 см³). Оценивали также безопасность повторного введения в мышцы шеи одинарной дозы данных вакцин с интервалом в 7 сут на 10 собаках третьей и шестой групп (№ 11–15 – для сорбированной вакцины, № 26–30 – для эмульсионного препарата). За клиническим состоянием животных наблюдали на протяжении 14 сут. Вакцину считали безвредной при условии, что все собаки в конце срока наблюдения оставались клинически здоровыми, без формирования некроза в области инокуляции.

Определение количества антирабических вируснейтрализующих антител (ВНА). Оценка напряженности поствакцинального гуморального антирабического иммунитета у собак на 21 сут после вакцинации проводили при анализе сывороток крови животных № 1–5, 16–30 в реакции нейтрализации (модификация FAVN) с применением монослойной клеточной линии ВНК-21 согласно рекомендациям МЭБ по бешенству [2]. Исследование каждой сыворотки крови проводили в трех повторениях.

Статистическая обработка данных заключалась в определении средних арифметических значений титра антирабических антител и достоверности

Таблица 2
Иммунизация собак антирабическими инактивированными вакцинами на основе штамма «ВНИИЗЖ» вируса бешенства и разных адъювантов

Table 2
Immunization of dogs with rabies inactivated vaccines based on ARRIAH strain of rabies virus formulated with different adjuvants

Номер группы	Номер животного	Характеристика вакцины		Прививная доза, см ³
		тип	адъювант	
1	1–5	инактивированная сорбированная	Montanide GEL 01	1,0
2	6–10			3,0
3	11–15			1,0 + 1,0
4	16–20	инактивированная эмульсионная	Montanide ISA 70 VG	1,0
5	21–25			3,0
6	26–30			1,0 + 1,0

Таблица 3
Оценка степени поствакцинального гуморального иммунитета у собак против бешенства в FAVN после введения антирабических инактивированных вакцин с применением разных адъювантов ($n_{\text{исследований}} = 3, p < 0,005$)

Table 3
Evaluation of level of post-vaccination humoral immunity against rabies in dogs by FAVN after administration of rabies inactivated vaccines formulated with different adjuvants ($n_{\text{of tests}} = 3, p < 0.005$)

Номер группы	Характеристика вакцины		Прививная доза, см ³	Номер животного	Титр антирабических ВНА на 21 сут после иммунизации, МЕ/см ³
	тип	адъювант			
1	инактивированная сорбированная	Montanide GEL 01	1,0	1	13,4 ± 1,2
				2	13,5 ± 0,8
				3	10,3 ± 0,9
				4	10,9 ± 1,5
				5	10,9 ± 1,7
				<i>M ± m</i>	11,8 ± 1,5
4	инактивированная эмульсионная	Montanide ISA 70 VG	1,0	16	29,6 ± 1,7
				17	28,6 ± 1,4
				18	27,4 ± 1,5
				19	29,8 ± 1,5
				20	26,3 ± 1,6
				<i>M ± m</i>	28,3 ± 1,5
5	инактивированная эмульсионная	Montanide ISA 70 VG	3,0	21	43,4 ± 2,8
				22	52,3 ± 3,9
				23	50,8 ± 3,6
				24	48,5 ± 3,7
				25	45,6 ± 3,9
				<i>M ± m</i>	48,1 ± 3,7
6	инактивированная эмульсионная	Montanide ISA 70 VG	1,0+1,0	26	17,5 ± 0,8
				27	15,5 ± 1,5
				28	14,9 ± 1,4
				29	17,2 ± 0,8
				30	16,9 ± 0,8
				<i>M ± m</i>	16,4 ± 1,1

статистической разницы между средними величинами в соответствии с методом Стьюдента-Фишера [12].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе исследования проводили оценку авирулентности полученного антигена вируса бешенства штамма «ВНИИЗЖ» в монослойной клеточной линии ВНК-21. По итогам анализа ни в одном из трех последовательных пассажей специфического для вируса бешенства флуоресцентного свечения детектировано не было, что свидетельствовало о проведении полной инактивации вируса.

На втором этапе работы две предложенные вакцины исследовали на авирулентность на 20 белых мышах и на безвредность с использованием 20 собак (№ 6–15, 21–30). По результатам анализа изготовленные препараты были признаны авирулентными и безвредными, поскольку все иммунизированные животные в течение всего срока

наблюдения оставались клинически здоровыми, без проявления признаков бешенства и без формирования некроза тканей на месте введения препарата.

Следующий этап исследования был посвящен изучению поствакцинального гуморального иммунитета у 20 собак после введения антирабических вакцин, изготовленных на основе штамма «ВНИИЗЖ» вируса бешенства с применением адъювантов Montanide ISA 70 VG и Montanide GEL 01. Иммунизацию животных четырех групп проводили в соответствии со схемой, представленной в таблице 2. До вакцинации и спустя 21 сут после введения препаратов у собак отобрали кровь и исследовали сыворотки в реакции нейтрализации (модификация FAVN) [2]. Выявили, что до иммунизации сыворотки крови животных не содержали антител против вируса бешенства.

Из данных таблицы 3 и рисунков 1–4 видно, что у животных первой группы, привитых антирабической инактивированной сорбированной вакциной с применением адъюванта Montanide GEL 01 однократно в дозе 1,0 см³, титры ВНА в среднем составляли 11,8 ± 1,5 МЕ/см³. Данное значение в 2,4 раза ниже, чем у собак из четвертой группы, иммунизированных однократно в дозе 1,0 см³ вакциной с применением адъюванта Montanide ISA 70 VG, у которых титры антител против вируса бешенства составили 28,3 ± 1,5 МЕ/см³. Учитывая, что уровень гуморального иммунитета у собак, вакцинированных эмульсионной вакциной, выше по сравнению с сорбированным препаратом, дальнейшие исследования проводили с вакциной, изготовленной на основе адъюванта Montanide ISA 70 VG, увеличив дозу в три раза, а также вакцинируя дважды в дозе 1,0 см³ с интервалом 7 сут. Так, у животных пятой группы, которым инокулировали эмульсионную вакцину однократно в дозе 3,0 см³, титры ВНА соответствовали значениям 48,1 ± 3,7 МЕ/см³, что в 4,1 и 2,4 раза выше, чем у животных первой и четвертой групп соответственно. У собак шестой группы, привитых данным препаратом двукратно по 1,0 см³, титры ВНА в среднем составляли 16,4 ± 1,1 МЕ/см³, что в 1,4 раза выше, чем у животных первой группы.

В результате проведенного сравнительного анализа полученных данных установлено, что антирабическая инактивированная эмульсионная вакцина, изготовленная с применением адъюванта Montanide ISA 70 VG, стимулировала формирование более напряженного гуморального иммунитета по сравнению с сорбированной вакциной, полученной с использованием адъюванта Montanide GEL 01. Так, в группе животных, которых иммунизировали эмульсионной вакциной однократно в дозе 1,0 см³, титр ВНА был в 1,7 раза выше по сравнению с данными для сорбированного вакцинного препарата. Уровень антирабических антител у собак, иммунизированных эмульсионной вакциной однократно в дозе 3,0 см³ и двукратно по 1,0 см³, был соответственно в 4,1 и 1,4 раза выше, чем у животных, привитых сорбированной вакциной.

Сравнивая средние значения титров антирабических антител у собак на 21 сут после иммунизации эмульсионной вакциной в разных дозах, выявили, что наиболее высокий уровень ВНА достигался при однократной инокуляции препаратом в дозе 3,0 см³ (48,1 ± 3,7 МЕ/см³).

Введение в организм собак данной антирабической вакцины однократно в дозе 1,0 см³ и двукратно по 1,0 см³ на 21 сут после иммунизации стимулировало накопле-

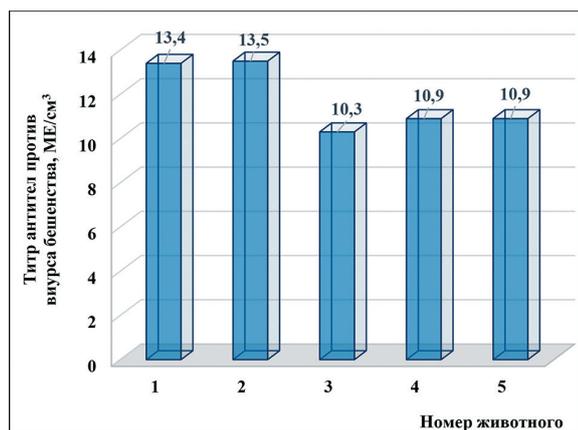


Рис. 1. Гуморальный иммунитет у собак на 21 сут после однократного введения антирабической инактивированной сорбированной вакцины на основе адъюванта Montanide GEL 01 в дозе 1,0 см³ (по данным FAVN)

Fig. 1. Humoral immunity in dogs 21 days after single administration of anti-rabies inactivated adsorbed vaccine based on Montanide GEL 01 adjuvant at a dose of 1.0 cm³ (according to the FAVN data)

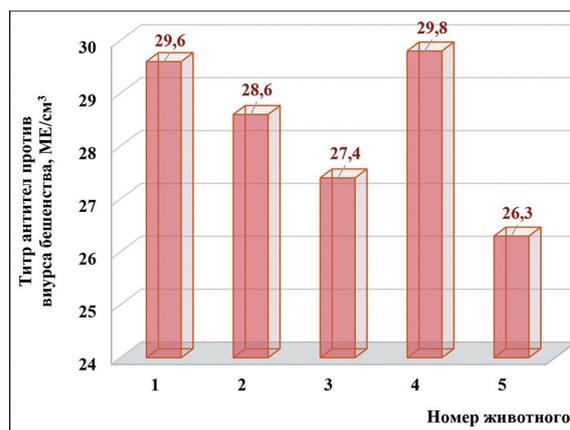


Рис. 2. Гуморальный иммунитет у собак на 21 сут после однократного введения антирабической инактивированной эмульсионной вакцины на основе адъюванта Montanide ISA 70 VG в дозе 1,0 см³ (по данным FAVN)

Fig. 2. Humoral immunity in dogs 21 days after single administration of anti-rabies inactivated emulsion vaccine based on Montanide ISA 70 VG adjuvant at a dose of 1.0 cm³ (according to the FAVN data)

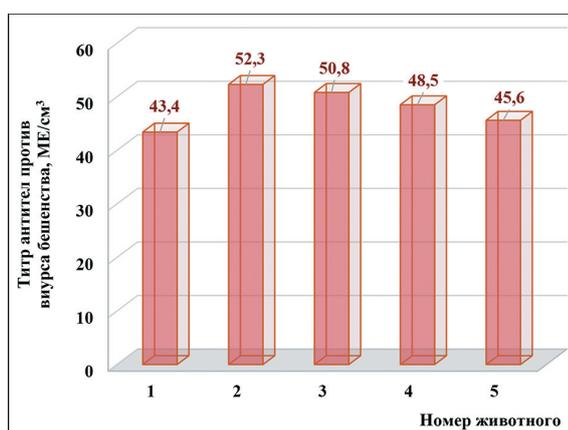


Рис. 3. Гуморальный иммунитет у собак на 21 сут после однократного введения антирабической инактивированной эмульсионной вакцины на основе адъюванта Montanide ISA 70 VG в дозе 3,0 см³ (по данным FAVN)

Fig. 3. Humoral immunity in dogs 21 days after single administration of anti-rabies inactivated emulsion vaccine based on Montanide ISA 70 VG adjuvant at a dose of 3.0 cm³ (according to the FAVN data)

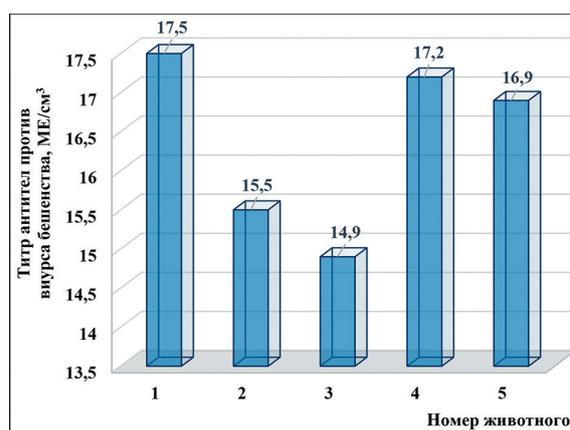


Рис. 4. Гуморальный иммунитет у собак на 21 сут после двукратного введения антирабической инактивированной эмульсионной вакцины с применением адъюванта Montanide ISA 70 VG по 1,0 см³ с интервалом 7 сут (по данным FAVN)

Fig. 4. Humoral immunity in dogs 21 days after double administration of anti-rabies inactivated emulsion vaccine based on Montanide ISA 70 VG adjuvant at a dose of 1.0 cm³ at 7-day interval (according to the FAVN data)

ние ВНА в титрах $28,3 \pm 1,5$ и $16,4 \pm 1,1$ МЕ/см³, что в 2,4 и 2,9 раза ниже по сравнению с однократным введением указанного препарата в дозе 3,0 см³. Следует отметить, что на протяжении всего срока наблюдения (21 сут) состояние всех животных, привитых представленными вакцинами в разных дозах, было удовлетворительным.

В результате проведенных исследований выявили, что разработанные антирабические инактивированные вакцины из штамма «ВНИИЗЖ» вируса бешенства с применением адъювантов Montanide ISA 70 VG и Montanide GEL 01 на 21 сут после введения индуцировали у собак выработку защитного уровня антител (выше 0,5 МЕ/см³) и тем самым соответствовали требованиям МЭБ по иммуногенности [2]. При этом наиболее высокие показатели уровня гуморального иммунитета

у собак против бешенства $48,1 \pm 3,7$ и $28,3 \pm 1,5$ МЕ/см³ отмечали при использовании антирабической инактивированной эмульсионной вакцины в дозах 3,0 и 1,0 см³ соответственно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено исследование иммунобиологических свойств двух антирабических инактивированных вакцин из штамма «ВНИИЗЖ» вируса бешенства с применением адъювантов Montanide ISA 70 VG и Montanide GEL 01.

При тестировании на белых мышах и собаках установили, что полученные препараты являются безвредными.

Проведена оценка гуморального иммунитета у 20 беспородных собак на 21 сут после введения

разработанных вакцин в разных дозах. Выявили, что разработанные антирабические инактивированные вакцины стимулировали у собак формирование защитного уровня антител и соответствовали требованиям МЭБ по иммуногенности.

Обнаружено, что наиболее высокие показатели уровня гуморального иммунитета у собак против бешенства на 21 сут составили $48,1 \pm 3,7$ и $28,3 \pm 1,5$ МЕ/см³ и отмечались при использовании антирабической инактивированной эмульсионной вакцины в дозах 3,0 и 1,0 см³ соответственно. Вакцина с применением масляного адъюванта Montanide ISA 70 VG при однократном введении в дозе 1,0 см³ способствовала выработке вируснейтрализующих антирабических антител в 2,4 раза выше по сравнению с препаратом, полученным с использованием адъюванта Montanide GEL 01.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. п. 2, 3, 5, 6 см. REFERENCES)

1. Метлин А. Е. Современные аспекты классификации лиссаивирусов. *Ветеринария сегодня*. 2017; 3 (22): 52–57. eLIBRARY ID: 30079581.
4. Груздев Л. К., Уласов В. И., Груздев К. Н. Экология вируса бешенства и проблемы контроля заболевания. *Актуальные проблемы биологии и ветеринарной медицины мелких домашних животных: материалы Международной научно-практической конференции*. Троицк: УГАВМ; 2000: 155.
7. Березина Е. С. Экология собак городских популяций. Классификация экологических групп, численность, популяционная структура, коммуникации (на модели г. Омска и области). *Ветеринарная патология*. 2002; 1: 132–135. eLIBRARY ID: 9129939.
8. Груздев К. Н., Метлин А. Е. Бешенство животных. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2019. 394 с.
9. Борисов А. В. Разработка технологии изготовления вирусвакцин против бешенства диких плотоядных: автореф. дис. ... канд. вет. наук. Владимир; 2003. 23 с.
10. Чернышова Е. В., Назаров Н. А., Метлин А. Е., Рыбаков С. С., Челуркин А. В., Сухарьков А. Ю., Еремина А. Г., Иовлева А. Ю. Анализ иммуногенности вакцин, применяемых для профилактики бешенства животных на территории Российской Федерации. *Труды Федерального центра охраны здоровья животных*. 2010; 8: 64–73. eLIBRARY ID: 15595682.
11. Чупин С. А., Доронин М. И., Чернышова Е. В., Шульпин М. И. Генетическая характеристика изолятов вируса бешенства, выявленных на территории Владимирской области. *Ветеринария сегодня*. 2015; 4 (15): 46–48. eLIBRARY ID: 25596872.
12. Гланц С. Медико-биологическая статистика: пер. с англ. д-ра физ.-мат. наук Ю. А. Данилова; под ред. Н. Е. Бузикашвили, Д. В. Самойлова. М.: Практика; 1999. 459 с. Режим доступа: <https://medstatistic.ru/articles/glantz.pdf>.

REFERENCES

1. Metlin A. Ye. Modern aspects of Lyssavirus classification. *Veterinary Science Today*. 2017; 3: 52–57. eLIBRARY ID: 30079581. (in Russian)
2. Rabies (infection with rabies virus and other lyssaviruses). In *OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. Paris; 2018; Chap. 3.1.17: 578–612. Available at: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.17_RABIES.pdf.
3. WHO Publication. Rabies vaccines: WHO position paper-recommendations. *Vaccine*. 2010; 28(44): 7140–7142. DOI: 10.1016/j.vaccine.2010.08.082.
4. Gruzdev L. K., Ulasov V. I., Gruzdev K. N. Ecology of rabies virus and disease control problems [Ekologiya virusa beshenstva i problemy kontrolya zabolevaniya]. *Current problems of biology and veterinary medicine of small domestic animals: materials of the International Scientific and Practical Conference*. Troitsk: UGAVM; 2000: 155. (in Russian)
5. Barrat J., Picard-Meyer E., Cliquet F. Rabies diagnosis. *Dev. Biol. (Basel)*. 2006; 125: 71–77. PMID: 16878462.
6. Hampson K., Coudelive L., Lembo T., Sambo M., Kieffer A., Attlan M., Barrat J., Blanton J. D., Briggs D. J., Cleaveland S., Costa P., Freuling C. M., Hiby E., Knopf L., Leanes F., Meslin F. X., Metlin A., Miranda M. E., Müller T., Nel L. H., Recuenco S., Rupprecht C. E., Schumacher C., Taylor L., Vigilato M. A., Zinsstag J., Dushoff J. Global Alliance for Rabies Control Partners for Rabies Prevention. Estimating the global burden of endemic canine rabies. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9(4): e0003709. DOI: 10/1371/journal.pntd.0003709.
7. Berezina E. S. Ecology of dogs in urban populations. Classification of ecological groups, numbers, population structure, communications (on the model of Omsk and Omsk region) [Ekologiya sobak gorodskih populyacij. Klassifikaciya ekologicheskikh grupp, chislennost', populyacionnaya struktura, kommunikacii (na modeli g. Omska i oblasti)]. *Veterinarnaya patologiya*. 2002; 1: 132–135. eLIBRARY ID: 9129939. (in Russian)
8. Gruzdev K. N., Metlin A. Ye. Animal Rabies. Vladimir: FGBI "ARRIAH"; 2019. 394 p. (in Russian)
9. Borisov A. V. Development of manufacturing technology for virus vaccines against rabies in wild carnivores [Razrabotka tekhnologii izgotovleniya virusvakcin protiv beshenstva dikih plotoyadnyh]: author. dis. ... cand. of vet. science. Vladimir; 2003. 23 p. (in Russian)
10. Chernyshova Ye. V., Nazarov N. A., Metlyn A. Ye., Rybakov S. S., Cherpurkin A. V., Sukharkov A. Yu., Yeryomina A. G., Iovleva A. Yu. Potency testing of vaccines used for rabies prevention in the territory of the Russian Federation. *Proceedings of the Federal Centre for Animal Health*. 2010; 8: 64–73. eLIBRARY ID: 15595682. (in Russian)
11. Chupin S. A., Doronin M. I., Chernyshova Ye. V., Shulpin M. I. Genetic characterization of rabies virus isolates detected in the territory of the Vladimir Oblast. *Veterinary Science Today*. 2015; 4 (15): 46–48. eLIBRARY ID: 25596872. (in Russian)
12. Glants S. Primer of Biostatistics. Transl. from English by Yu. A. Danilov, Dr. Phys.-Math. Sciences; ed. by N. Ye. Buzikashvili, D. V. Samoilova. M.: Praktika; 1999. 459 p. Available at: <https://medstatistic.ru/articles/glantz.pdf>. (in Russian)

Поступила 20.11.19

Принята в печать 16.01.20

Received on 20.11.19

Approved for publication on 16.01.20

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Балашов Андрей Николаевич, ведущий технолог лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Доронин Максим Игоревич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Борисов Алексей Валерьевич, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Лозовой Дмитрий Анатольевич, доктор ветеринарных наук, доцент, заместитель директора по НИР и развитию ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Михалишин Дмитрий Валерьевич, кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Стариков Вячеслав Алексеевич, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Andrey N. Balashov, Leading Technologist, Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Maksim I. Doronin, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Aleksey V. Borisov, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Dmitry A. Lozovoy, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor, Deputy Director for Research and Development, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Dmitry V. Mikhailishin, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Vyacheslav A. Starikov, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.