



<https://doi.org/10.26898/0370-8799-2022-4-14>
УДК 619:615.2

Тип статьи: оригинальная
Type of article: original

РАЗРАБОТКА КОМБИНИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ РИНОПНЕВМОНИИ И МЫТА ЛОШАДЕЙ*

✉ **Попов А.А.**

Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. М.Г. Сафронова
Республика Саха (Якутия), Якутск, Россия

✉ e-mail: agronii@mail.ru

Представлена разработка инактивированной комбинированной вакцины против ринопневмонии и мыта лошадей. Изучены острая токсичность, пирогенность и иммуногенность вакцины на лабораторных животных. Доклинические испытания вакцины проведены на беспородных аутбредных мышах и кроликах. Испытание вакцинного препарата на кроликах-самцах показало его апиrogenность. Иммуногенность вирусного компонента вакцины проверена на аутбредных мышах 10–14-дневного возраста массой тела 6–7 г. Вакцину мышам 1-й группы ($n = 8$) вводили подкожно по 0,3 мл двукратно с интервалом 14 дней. Мыши 2-й группы ($n = 6$) использованы для отрицательного и положительного контроля. Через 14 дней после второй иммунизации проведено контрольное интрацеребральное заражение адаптированным штаммом вируса ринопневмонии лошадей в дозе $0,02 \times 6,0 \text{ IgTCD}_{50}/\text{мл}$. Иммуногенную активность мытного состава вакцины определяли на беспородных белых мышах. Вакцину в дозе 0,5 мл вводили подкожно 10 белым мышам. После вакцинации через 10 дней проведено заражение летальной дозой мытного стрептококка опытной и контрольной групп лабораторных мышей LD_{50} , которая составила 200 тыс. микробных тел в 1 мл. У мышей опытной группы за время наблюдения масса тела увеличилась на 1,5 г, контрольной – на 0,9 г. По результатам патоморфологических и гистологических исследований, изменений во внутренних органах, вызванных введением внутрижелудочно препаратов, не обнаружено. Доклиническое испытание показало отсутствие острой токсичности, алергизирующих, пирогенных свойств и иммуногенность комбинированной вакцины против ринопневмонии и мыта лошадей. Комбинированная вакцина предохраняет от экспериментального заражения вирусом ринопневмонии на 75%, возбудителем мыта на 80%.

Ключевые слова: комбинированная вакцина, острая токсичность, пирогенность, иммуногенность, мыт, ринопневмония, иммуномодулятор

DEVELOPMENT OF A COMBINED VACCINE AGAINST RHINOPNEUMONIA AND STRANGLES OF HORSES

✉ **Popov A.A.**

M.G. Safronov Yakut Scientific Research Institute of Agriculture
Yakutsk, Republic of Sakha (Yakutia), Russia

✉ agronii@mail.ru

The development of an inactivated combined vaccine against rhinopneumonia and horse strangles is presented. Acute toxicity, pyrogenicity and immunogenicity of the vaccine in laboratory animals have been studied. Preclinical trials of the vaccine were conducted on mongrel outbred mice and rabbits. Testing of the vaccine preparation on male rabbits showed its apyrogenicity. The

*Научный руководитель – доктор ветеринарных наук, профессор М.П. Неустроев.

immunogenicity of the viral component of the vaccine was tested on 10-14-day-old outbred mice with a body weight of 6-7 g. The vaccine was administered subcutaneously to the 1st group of mice (n = 8) 0.3 ml twice with an interval of 14 days. Mice of the 2nd group (n = 6) were used for negative and positive control. 14 days after the second immunization, a control intracerebral infection with an adapted strain of equine rhinopneumonia virus was carried out at a dose of $0.02 \times 6.0 \text{ lgTSD}_{50}/\text{ml}$. The immunogenic activity of the strangles composition of the vaccine was tested on mongrel white mice. The vaccine in a dose of 0.5 ml was administered subcutaneously to 10 white mice. After vaccination, 10 days later, infection with a lethal dose of strangles streptococcus was carried out in experimental and control groups of laboratory mice LD_{50} , which amounted to 200 thousand microbial bodies in 1 ml. In the mice of the experimental group, body weight increased by 1.5 g during observation, in the control group – by 0.9 g. According to the results of pathomorphological and histological studies, no changes in the internal organs caused by the administration of intragastric drugs were detected. Preclinical testing showed the absence of acute toxicity, allergenic, pyrogenic properties and immunogenicity of the combined vaccine against rhinopneumonia and horse strangles. The combined vaccine protects against experimental infection with the rhinopneumonia virus by 75%, with the causative agent of horse strangles by 80%.

Keywords: combined vaccine, acute toxicity, pyrogenicity, immunogenicity, strangles, rhinopneumonia, immunomodulator

Для цитирования: Попов А.А. Разработка комбинированной вакцины против ринопневмонии и мыта лошадей // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2022. Т. 52. № 4. С. 129–134. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2022-4-14>

For citation: Popov A.A. Development of a combined vaccine against rhinopneumonia and strangles of horses. *Sibirskii vestnik sel'skokhozyaistvennoi nauki = Siberian Herald of Agricultural Science*, 2022, vol. 52, no. 4, pp. 129–134. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2022-4-14>

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Для мирового коневодства вирусные и бактериальные болезни молодняка лошадей представляют сложную проблему. Из них наиболее распространенными болезнями считаются ринопневмония и мыт лошадей [1, 2].

В мире существуют разные виды вакцин против ринопневмонии: инактивированные, аттенуированные, живые, а также разные способы терапии [3, 4]. Однако технологии применения этих вакцин предусматривают двух- или трехкратную иммунизацию. В России для профилактики ринопневмонии используют сухую живую вирусвакцину из штамма СВ/69 [5, 6].

В Республике Саха (Якутия) сотрудниками Якутского научно-исследовательского института сельского хозяйства и ВИЭВ (Москва) разработана инактивированная вакцина из штамма СВ/69 против ринопневмонии лошадей с иммуномодулятором

из фугата штамма бактерий *Bacillus subtilis* ТНП-3 [7]. В 2018 г. депонирован штамм мытного стрептококка – *Streptococcus equi* Н-5/1 во ВГНКИ (регистрационный номер ВКШМ-Б-141П). Штамм используется для изготовления вакцины против мыта лошадей (патент на изобретение № 2703485 от 15.08.2018) [8].

Ввиду того, что ринопневмония может протекать одновременно с мытом, актуальным остается разработка комбинированной вакцины однократного применения. В доступной литературе нет данных об аналогах двухвалентной вакцины для профилактики ринопневмонии и мыта лошадей.

Цель работы – представить разработку инактивированной комбинированной вакцины против ринопневмонии и мыта лошадей.

Задачи исследования – изучить острую токсичность, пирогенность и иммуногенность комбинированной вакцины против ринопневмонии и мыта лошадей на лабораторных животных.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Комбинированная вакцина изготовлена из инактивированных штаммов вируса ринопневмонии СВ/69, бактерии *Streptococcus equi* «Н-5/1» и иммуномодулятора из штамма бактерий *Bacillus subtilis* ТНП-3. Лабораторные испытания опытной серии вакцины и определение иммуногенности мытного состава проведены на беспородных лабораторных белых мышах обоего пола 5–8-недельного возраста массой 18–20 г и здоровых кроликах-самцах массой 1,5–1,6 кг. Безвредность и пирогенность определяли в соответствии с ГОСТ 31926–2013 «Средства лекарственные для ветеринарного применения. Методы определения безвредности». Определение иммуногенности вирусного компонента вакцины проводили в лаборатории вирусологии ВИЭВ (Москва) на аутбредных мышах 10–14-дневного возраста массой тела 6–7 г. Результаты исследований математически обрабатывали по методу Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Введение опытным белым мышам вакцинного препарата внутривенно в дозе 1 см³ и физиологического раствора в аналогичной дозе мышам контрольной группы не оказало влияния на общее состояние животных. Мыши полностью съедали корм, были подвижными, активно проявляли реакцию на окружающих. Анализ динамики массы тела белых мышей выявил ее положительный прирост как в контрольной, так и в опытной группе (см. табл. 1).

В опытной группе, получавшей вакцинный препарат, прирост массы составил 9,2%, в контрольной – 5,05%. По результа-

там гистологических исследований, очаговых дистрофических изменений во внутренних органах не найдено.

Для определения пирогенности сформировали две группы по 3 гол. здоровых кроликов-самцов массой тела 1,5–1,6 кг. Комбинированную вакцину вводили в ушную вену кроликов в дозе 0,1 мл (2-я группа). В качестве контроля (1-я группа) вводили 0,9%-й физиологический раствор. После введения препарата температуру тела измеряли с интервалом не более 30 мин на протяжении 3 ч (см. табл. 2).

Во время наблюдения до проведения опыта средняя температура подопытных кроликов в 1-й группе составляла 38,6 °С, во 2-й – 38 °С. На 4-й день, до инъекции, она равнялась в 1-й группе 38,5 °С, во 2-й – 38,6 °С. После введения препарата температура кроликов в 1-й группе поднялась на 0,2 °С, во 2-й – на 0,4 °С. Таким образом, комбинированная вакцина апиrogenна и не вызвала изменения температуры тела животных.

Эффективность иммунизации определяли по количеству мышей, устойчивых после заражения. Иммуногенность вирусного компонента в 1-й группе мышей составила 75%, в контрольной все мыши погибли. Для контрольного заражения мытным стрептококком определили летальную дозу, которая составила 200 тыс. микробных тел в 1 см³. Из десяти иммунизированных мышей заболели и пали две мыши. В контрольной группе заболели и пали все 10 мышей. Иммуногенность мытного состава вакцины составила 80%.

Высокая эффективность иммуногенной активности ассоциированной вакцины обусловлена входящими в ее состав антигенно активных штаммов вируса ринопневмонии,

Табл. 1. Учет массы тела белых лабораторных мышей, г

Table 1. Body weight count of white laboratory mice, g

Группа	Масса тела в день наблюдения								
	До опыта (в течение 2 дней)	В день опыта (после введения)	1-й	2-й	3-й	4-й	5-й	6-й	7-й
1	16,3 ± 9,05	17,2 ± 9,68	17,7 ± 9,82	17,9 ± 9,89	17,2 ± 9,61	18,2 ± 10,11	17,8 ± 10,39	17,9 ± 10,11	17,8 ± 10,25
2	17,0 ± 0,84	17,4 ± 0,91	18,2 ± 0,84	18,2 ± 0,84	18,4 ± 1,06	18,5 ± 1,2	18,2 ± 0,98	18,6 ± 0,63	18,7 ± 0,63

Табл. 2. Результаты измерения температуры тела подопытных кроликов до и после инъекций ($n = 3$)

Table 2. Results of body temperature measurements of experimental rabbits before and after injections ($n = 3$)

День опыта	1-я группа	2-я группа
<i>До инъекции препарата</i>		
1-й	38,7 ± 0,42	38,0 ± 0,21
2-й	38,3 ± 0,35	37,9 ± 0,21
3-й	38,8 ± 0,21	38,2 ± 0,28
4-й	38,5 ± 0,21	38,6 ± 0,56
Через 30 мин	38,5 ± 0,14	38,6 ± 0,49
<i>После инъекции препарата на 4-й день опыта</i>		
Через 30 мин	38,6 ± 0,21	37,6 ± 0,70
Через 1 ч	38,4 ± 0,42	37,9 ± 0,35
Через 1,5 ч	38,5 ± 0,14	38,4 ± 0,28
Через 2 ч	38,5 ± 0,07	38,8 ± 0,14
Через 2,5 ч	38,7 ± 0,35	38,7 ± 0,21
Через 3 ч	38,7 ± 0,07	39,0 ± 0,21

мытного стрептококка и иммуномодулятора из штамма бактерий *Bac. subtilis* ТНП-3, который обладает ферментативными, интерферониндуцирующими, противомикробными и иммуностимулирующими свойствами [9]. Полученные результаты согласуются с работами исследователей, установивших, что вирусные и бактериальные антигены в комбинированных вакцинах приводят к значительной стимуляции фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов, которая способствует развитию адаптивного иммунитета [10]. Shiliang A. Liu и др. [11] экспериментально доказали на лабораторных мышах, что внутримышечное введение живой векторной вакцины против ГВЛ-1 стимулирует образование гуморального и иммунного ответа. Seong K. Kim и др. [12] также отмечают, что иммунизация ослабленным штаммом вируса герпеса 1-го типа лабораторных мышей стимулирует выработку в их организме врожденных иммунных ответов, что защищает их при контрольном заражении летальной дозой вируса.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что комбинированная вакцина в изучаемых дозах не влияет отрицательно на общее состояние животных, не

обладает алергизирующими свойствами, не вызывает судорожных реакций, не нарушает координацию движений и не обладает токсичностью в отношении лабораторных животных.

2. Иммуногенность вирусного состава вакцины составила 75%, мытного состава – 80%.

3. Разработка и внедрение в производство комбинированной вакцины повысит эффективность профилактических мероприятий при респираторных болезнях молодняка лошадей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Неустроев М.П., Петрова С.Г., Эльбядова Е.И., Попов А.А. Профилактика и лечение вирусно-бактериальных болезней молодняка лошадей // Тенденции развития науки и образования. 2018. № 43 (7). С. 52–54. DOI: 10.18411/lj-10-2018-167.
2. Minoru O., Hiroshi B., Manabu N., Yoshinori K., Norihisa T., Koji T. Antibody Responses Against Equine Influenza Virus Induced by Concurrent and by Consecutive Use of an Inactivated Equine Influenza Virus Vaccine and a Modified Live Equine Herpesvirus Type 1 Vaccine in Thoroughbred Racehorses // Journal of Equine Veterinary Science. 2020. N 94. P. 21–32. DOI: 10.1016/j.jevs.2020.103221.
3. Ameer Khusro, Chirom Aarti, Raymundo Rene Rivas-Caceres, Alberto Barbabosa-Pliego. Equine Herpesvirus-I Infection in Horses: Recent Updates on its Pathogenicity, Vaccination, and Preventive Management Strategies // Journal of Equine Veterinary Science. 2020. N 87. P. 23–29. DOI: 10.1016/j.jevs.2020.102923.
4. Laval K., Poelaert K.C.K., Van Cleemput J., Zhao J., Vandekerckhove A.P., Gryspeerdt A.C., Garré B., Meulen K., Baghi H.B., Dubale H.N., Zarak I., Crombrugge E., Nauwynck H.J. The Pathogenesis and Immune Evasive Mechanisms of Equine Herpesvirus Type 1 // Frontiers in Microbiology. 2021. N 12. P. 662–686. DOI: 10.3389/fmicb.2021.662686.
5. Юров К.П. Некоторые итоги работы лаборатории вирусологии ВИЭВ // Ветеринария и кормление. 2014. № 5. С. 60–61.
6. Юров К.П., Глюкин М.М. Профилактика массовых инфекционных болезней лошадей в табунном коневодстве // Устойчивое развитие табунного коневодства. 2007. № 5. С. 255–256.

7. Тихонова Ф.М., Неустроев М.П., Петрова С.Г., Баишев А.А. Испытание эффективности вакцины против ринопневмонии лошадей инактивированной с иммуномодулятором в производственных условиях // *Ветеринарная медицина*. 2012. № 96. С. 172–174.
 8. Эльбядова Е.И., Неустроев М.П. Результаты дорегистрационных исследований вакцины против мыта лошадей // *Ветеринария и кормление*. 2022. № 2. С. 57–60. DOI: 10.30917/АТТ-ВК-1814-9588-2022-2-16.
 9. Степанов А.И., Неустроев М.П., Тарабукина Н.П., Юров К.П., Петрова С.Г., Эльбядова Е.И., Попов А.А. Результаты разработки микробных препаратов в коневодстве // *Ветеринария и кормление*. 2018. № 2. С. 78–81. DOI: 10.30917/АТТ-ВК-1814-9588-2018-2-20.
 10. Брылина В.Е., Третьякова И.В., Пермякова К.Ю., Бехзадур Дар'юш. Иммунологический мониторинг комбинированной и ассоциированной вакцин и их монокомпонентов // *Ветеринарная медицина*, 2011. № 3-4. С. 42–45.
 11. Shiliang A. Liu, Brent A. Stanfield, Vladimir N. Chouljenko, Shan Naidu, Ingeborg Langohr, Fabio Del Piero, Jacqueline Ferracone, Alma A. Roy, Konstantin G. Kousoula. Intramuscular Immunization of Mice with the Live-Attenuated Herpes Simplex Virus 1 Vaccine Strain VC2 Expressing Equine Herpesvirus 1 (EHV-1) Glycoprotein D Generates Anti-EHV-1 Immune Responses in Mice // *Journal of Virology*. 2017. Vol. 91. Is. 12. DOI: 10.1128/JVI.02445-16.
 12. Seong K. Kim, Akhalesh K. Shakya, Dennis J. O'Callaghan. Immunization with Attenuated Equine Herpesvirus 1 Strain KyA Induces Innate Immune Responses That Protect Mice from Lethal Challenge // *Journal of Virology*. 2016. Vol. 90 (18). P. 8090–8104. DOI: 10.1128/JVI.00986-16.
- REFERENCES**
1. Neustroev M.P., Petrova S.G., El'byadova E.I., Popov A.A. Prevention and treatment of viral and bacterial diseases of young horses. *Tendentsii razvitiya nauki i obrazovaniya = Trends in the development of science and education*, 2018, vol. 43 (7), pp. 52–54. (In Russian). DOI 10.18411/lj-10-2018-167.
 2. Minoru O., Hiroshi B., Manabu N., Yoshinori K., Norihisa T., Koji T. Antibody Responses Against Equine Influenza Virus Induced by Concurrent and by Consecutive Use of an Inactivated Equine Influenza Virus Vaccine and a Modified Live Equine Herpesvirus Type 1 Vaccine in Thoroughbred Racehorses. *Journal of Equine Veterinary Science*, 2020, no. 94, pp. 21–32. DOI: 10.1016/j.jevs.2020.103221.
 3. Ameer Khusro, Chirom Aarti, Raymundo Rene Rivas-Caceres, Alberto Barbabosa-Pliego. Equine Herpesvirus-I Infection in Horses: Recent Updates on its Pathogenicity, Vaccination, and Preventive Management Strategies. *Journal of Equine Veterinary Science*, 2020, no. 87, pp. 23–29. DOI: 10.1016/j.jevs.2020.102923.
 4. Laval K., Poelaert K.C.K., Van Cleemput J., Zhao J., Vandekerckhove A.P., Gryspeerdt A.C., Garré B., Meulen K., Baghi H.B., Dubale H.N., Zarak I., Crombrugge E., Nauwynck H.J. The Pathogenesis and Immune Evasive Mechanisms of Equine Herpesvirus Type 1. *Frontiers in Microbiology*, 2021, no. 12, pp. 662–686. DOI: 10.3389/fmicb.2021.662686.
 5. Yurov K.P. Some results of the laboratory of virology VIEV. *Veterinariya i kormlenie = Veterinariya I Kormlenie*, 2014, no. 5, pp. 60–61. (In Russian).
 6. Yurov K.P., Glyukin M.M. Prevention of mass infectious diseases of horses in herd horse breeding. *Ustoichivoe razvitie tabunnogo konovodstva = Sustainable development of herd horse breeding*, 2007, no. 5. pp. 255–256. (In Russian).
 7. Tikhonova F.M., Neustroev M.P., Petrova S.G., Baishev A.A. The tests of the effectiveness of vaccine against equine rhinopneumonitis inactivated with immunomodulator in production conditions. *Veterinarna meditsina = Veterinary Medicine*, 2012, no. 96, pp. 172–174. (In Russian).
 8. El'byadova E.I., Neustroev M.P. Results of pre-registration studies of the vaccine against horse strangles. *Veterinariya i kormlenie = Veterinariya I Kormlenie*, 2022, no. 2, pp. 57–60. (In Russian). DOI: 10.30917/АТТ-ВК-1814-9588-2022-2-16.
 9. Stepanov A.I., Neustroev M.P., Tarabukina N.P., Yurov K.P., Petrova S.G., El'byadova E.I., Popov A.A. Results of the development of microbial preparations in horse breeding. *Veterinariya i kormlenie = Veterinariya I Kormlenie*, 2018, no. 2, pp. 78–81. (In Russian). DOI: 10.30917/АТТ-ВК-1814-9588-2018-2-20.
 10. Brylina V.E., Tret'yakova I.V., Permyakova K.Yu., Bekhzadrur Dar'yush. Immunologi-

- cal monitoring of combined and associated vaccines and their monocomponents. *Veterinarna meditsina = Veterinary Medicine*, 2011, vol. 3–4, pp. 42–45. (In Russian).
11. Shiliang A. Liu, Brent A. Stanfield, Vladimir N. Chouljenko, Shan Naidu, Ingeborg Langohr, Fabio Del Piero, Jacqueline Ferracone, Alma A. Roy, Konstantin G. Kousoula. Intramuscular Immunization of Mice with the Live-Attenuated Herpes Simplex Virus 1 Vaccine Strain VC2 Expressing Equine Herpesvirus 1 (EHV-1) Glycoprotein D Generates Anti-EHV-1 Immune Responses in Mice. *Journal of Virology*, 2017, vol. 91, is. 12. DOI: 10.1128/JVI.02445-16.
 12. Seong K. Kim, Akhalesh K. Shakya, Dennis J. O'Callaghan. Immunization with Attenuated Equine Herpesvirus 1 Strain KyA Induces Innate Immune Responses That Protect Mice from Lethal Challenge. *Journal of Virology*, 2016, vol. 90 (18), pp. 8090–8104. DOI: 10.1128/JVI.00986-16.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ

✉ **Попов А.А.**, аспирант; **адрес для переписки:** Россия, 677001, Республика Саха (Якутия), Якутск, Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. М.Г. Сафронова; e-mail: agronii@mail.ru

AUTHOR INFORMATION

✉ **Adrian A. Popov**, Postgraduate Student; **address:** M.G. Safronov Yakut Scientific Research Institute of Agriculture, Yakutsk, Republic of Sakha, 677001, Russia; e-mail: agronii@mail.ru

Дата поступления статьи / Received by the editors 21.06.2022
Дата принятия к публикации / Accepted for publication 26.08.2022
Дата публикации / Published 26.09.2022