

Ковалев Н.А., доктор ветеринарных наук, профессор, академик НАН Беларуси
Бучукури Д.В., кандидат ветеринарных наук
Ломако Ю.В., кандидат ветеринарных наук, доцент
Борисовец Д.С., кандидат ветеринарных наук, доцент
Курбат И.А., младший научный сотрудник
Великий С.В., младший научный сотрудник

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеслесского», г. Минск

ПЕРОРАЛЬНАЯ ВАКЦИНАЦИЯ ДИКИХ ПЛОТОЯДНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРОТИВ БЕШЕНСТВА В БЕЛАРУСИ (ОБЗОР)

Резюме

В статье приведен анализ эпизоотической ситуации по бешенству животных в Республике Беларусь, а также последовательность применяемых разработок и технологий в области конструирования вакцин против бешенства животных и результаты эффективности разработанной безблестерной вакциносодержащей антирабической приманки, которая при экспериментальных испытаниях обладает показателями высокой эффективности, безопасности и является перспективной в практическом применении.

Summary

The article provides an analysis of the epizootic situation of rabies in the Republic of Belarus, as well as the sequence of applied developments and technologies in the field of design of rabies vaccines for animals and the results of the effectiveness of the developed blisters vaccine-containing rabies vaccine virus, which in experimental tests has indicators of high efficiency, safety and is promising in practical application.

Поступила в редакцию 26.10.2020 г.

Бешенство является исключительно опасным, абсолютно смертельным вирусным заболеванием, поражающим всех теплокровных животных и человека. Оно регистрируется на всех континентах земного шара, за исключением Антарктиды, Австралии и Новой Зеландии. Ежегодно в мире от бешенства погибает до 60000 тыс. человек и более миллиона животных [1, 2, 3].

Бешенство широко распространено и в Беларуси. В последние годы ежегодно регистрируется до 0,4–1,5 тыс. случаев заболевания животных. Обращаемость населения за антирабической помощью составляет приблизительно 28 000 случаев в год. В 2000–2006 гг. отмечено 6 случаев гибели людей от бешенства.

Основным резервуаром вируса и главным источником заражения бешенством в республике являются дикие плотоядные животные, главным образом лисицы.

Они непосредственно или через собак и кошек заражают бешенством домашних продуктивных животных и человека [4, 5, 6].

Следовательно, наиболее эффективным способом борьбы с бешенством является ликвидация очагов этой инфекции в популяциях лисиц и других плотоядных. Наряду со снижением численности популяции до уровня ниже критического, практически действенным способом профилактики бешенства среди диких животных является их иммунизация.

Применительно к диким животным традиционные методы введения вакцины (подкожный, внутримышечный, аэрозольный) практически невыполнимы. Наиболее реальным представляется естественный путь введения препарата, т.е. посредством поедания животными различных приманок с вакциной.

В последнее время опубликовано значительное количество сообщений о пероральной иммунизации лисиц против бешенства. Экспериментальные данные, полученные в лабораторных и природных условиях, подтверждают перспективность оральной иммунизации [7, 8, 9, 10, 11, 12, 13].

Учитывая большую актуальность вопроса, в РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеселеского» в 70–80-е гг. XX ст. были проведены исследования по разработке перорального способа антирабической вакцинации диких плотоядных и конструированию вакцины для этих целей.

Ковалев Н.А. и соавт. селекционировали штамм фиксированного вируса бешенства «71 БелНИИЭВ-ВГНКИ», адаптированный к культуре клеток. На его основе изготовлена культуральная антирабическая вакцина для пероральной иммунизации диких плотоядных животных. В качестве вирусосодержащей приманки использовались куриные головы, кусочки мяса или рыбы массой 30–50 г [14, 15, 16].

Эксперименты на 417 лисицах, енотовидных собаках и волках показали, что при пероральном введении вакцины из селекционированного штамма аттенуированного культурального вируса бешенства у них формируется напряженный антирабический иммунитет.

Изучено инактивирующее действие желудочного сока на вакцинный вирус бешенства и изыскан способ его защиты от инактивации с помощью пектина. Определена рациональная доза вакцины – 2 мл. Иммуитет у лисиц после однократной пероральной антирабической вакцинации формировался на 21–35-й дни и сохранялся до года (срок наблюдения). Причём колостральным путем антитела передавались потомству и регистрировались у них до 45 дней.

Вакцинный вирус не обладал реверсильностью и был безвредным для мелких грызунов и лисиц при пероральном введении даже в очень больших дозах. Так, лисицы без вредных последствий пе-

реносили скормливание вирусосодержащего материала в дозах до 30 мл (3,3 млн МИД).

Определены сроки сохранности вакцинного вируса в приманках во внешней среде. При температуре 15–20 °С титр вируса через 5–7 дней снижался в два раза, при минусовых температурах в течение этого времени почти не изменялся.

С помощью радиометки, ИФА, иммуноморфологических исследований выяснено, что характер распределения вакцинного вируса в организме животных и механизм участия иммунной системы в иммуногенезе при пероральной антирабической иммунизации существенно не отличается от парентеральной.

Положительные результаты экспериментальных исследований позволили провести вакцинацию диких плотоядных против бешенства в природных условиях. По разрешению ГУВ МСХ СССР на территории неблагополучных по бешенству урочищ Беларуси площадью 8000 км² были разложены вакциносодержащие приманки (куриная голова, кусочек мяса и рыбы). Раскладка приманок производилась по площади в местах обитания лисиц из расчета 15–20 приманок на 1 км². В некоторых урочищах приманки раскладывали около предварительно закартографированных обитаемых нор на расстоянии 10–15 м. Раскладывали приманки в основном в зимне-весеннее (февраль-март) и весеннее (апрель-май) время.

Выборочный учет поедаемости приманок зверями проводили ежедневно в течение 5–8 дней. Результаты проведенной вакцинации оценивали по титрам специфических вируснейтрализующих антител в крови у отстреленных зверей и эпизоотологическим показателям. Поедаемость приманок составляла 30–60 %. В зимне-весеннее время и при раскладке у нор она была выше, чем в весеннее время и при раскладке на площади.

Наибольшая поедаемость приманок (40–60 %) отмечалась в первые три дня с момента раскладки, через 4–6 дней она составила 15–30 %, а через 7 и более дней не превышала 10 %.

В среднем 71,5 % приманок поедали лисицы, 20,5 % – енотовидные собаки, 1,5 % – дикие кабаны, 2 % – птицы, 4–5 % – неизвестные животные. Птицы поедали приманки, расположенные вдали от нор.

С целью выявления отрицательного воздействия вакцинного вируса бешенства на мелких грызунов в случае поедания ими приманок в зоне раскладки производился поиск павших грызунов, а также были отловлены и исследованы на наличие вируса бешенства 158 мышевидных грызунов. В результате трупы грызунов не были обнаружены, а у отловленных особей ни в одном случае вируса бешенства выявлено не было, что говорит о безопасности проведения пероральной антирабической вакцинации в природных условиях.

Для контроля поствакцинального иммунитета к бешенству через 1–6 месяцев после раскладки вакцинных приманок в зонах раскладки было отстрелено 17 лисиц и 3 енотовидные собаки, и от них получена сыворотка крови. При ее исследовании в реакции нейтрализации на белых мышах установлено, что в крови у всех животных, за исключением 2 лисиц, содержались специфические вируснейтрализующие антитела в титрах 5–8 $\log_2$.

В результате проведенной в течение 2–3 лет подряд пероральной антирабической вакцинации случаи бешенства в отдельных урочищах значительно уменьшились, в других полностью прекратились.

В период 1979–1987 гг. антирабическая вакцина для пероральной иммунизации диких плотоядных животных, изготовленная в БелНИИЭВ, применялась в 6 районах БССР и 10 районах Литовской ССР. Только в 1987 г. в Литовской ССР проиммунизировано 864 особи (лисицы, енотовидные собаки и барсуки).

В соответствии с указанием Главного управления ветеринарии Госагропрома СССР и Главного управления биологической промышленности в условиях Грузинского биокOMBината согласно ТУ 10-19-509-87 (на опытную партию) «Вирус-вакцина антирабическая сухая для пероральной иммунизации диких плотоядных

животных», утвержденным ГУВ Госагропрома СССР 17.09.87 г., изготовлены две опытно-промышленные серии вакцины.

В 1988 г. вакцина, изготовленная Грузинским биокOMBинатом и БелНИИЭВ, применена в трех районах Белорусской ССР, неблагоприятных по бешенству диких плотоядных, а также в Донецкой, Ровенской, Сумской, Ворошиловградской областях УССР, Липецкой области РСФСР, Литовской и Грузинской ССР. Получен положительный результат. Проведенные исследования показали, что предложенная вакцина для пероральной антирабической иммунизации диких плотоядных является высокоиммуногенным препаратом. Ее применение эпизоотологически, иммунологически и экономически оправдано, технически осуществимо и является перспективным для профилактики бешенства в природных условиях [17, 18, 19, 22].

В дальнейшем нами были предприняты исследования по усовершенствованию указанной вакцины, а именно по селекционированию биологически более активного вакцинного вируса, разработке суспензионного способа его культивирования и конструирования эффективной и технологичной приманки из относительно дешевых и доступных ингредиентов.

С целью селекционирования модифицированного вакцинного штамма вируса бешенства культуру клеток *Vero* в концентрации 0,05–0,06 млн кл/мл на среде Игла МЕМ с 10 % сыворотки крупного рогатого скота вносили в 1,5-литровые матрасы, которые помещали в термостат при $37 \pm 0,5$ °C. На ранней стадии фазы логарифмического роста (17–20 часов) культуру заражали штаммом вируса «71 БелНИИЭВ-ВГНКИ» в дозе 0,1–0,2 МИД₅₀/кл. Сбор урожая проводили через 4–6 суток.

По такой методике проведено 7 последовательных пассажей вируса, а затем 10 чередующихся пассажей через мозг белых мышей и культуру клеток *Vero*.

Полученный вирус, названный «КМИЭВ-94», в течение 5 пассажей культивировали статичным способом на куль-

туре клеток *Vero*, ПС и ВНК-21. В качестве контроля на этих же культурах клеток одновременно культивировали вирус штамма «71 БелНИИЭВ-ВГНКИ». Перед началом культивирования и после 3 и 5 пассажей определяли титр вируса на белых мышах.

В результате на всех использованных культурах клеток титр модифицированного вируса был на 0,3–1,1 lg ЛД₅₀/мл выше, чем титр вируса штамма «71 БелНИИЭВ-ВГНКИ». Наиболее интенсивное накопление модифицированного штамма вируса происходило на культуре клеток ПС (7,0–7,1 lg ЛД₅₀/мл), на втором месте были клетки *Vero* (6,6–6,9 lg ЛД₅₀/мл) и на третьем – клетки ВНК-21 (6,1–6,3 lg ЛД₅₀/мл).

Титры вируса штамма «71 БелНИИЭВ-ВГНКИ» на всех культурах клеток существенно не отличались (5,8–6,2 lg ЛД₅₀/мл).

С целью проверки безвредности полученного модифицированного вируса его вводили подкожно 10 белым мышам в дозе 0,1 мл и 5 кроликам в дозе 10,0 мл, а также перорально 10 белым мышам в дозе 0,5 см³, 5 кроликам в дозе 20,0 см³ и 5 собакам в дозе 30,0 см³. Наблюдение за животными продолжали в течение 28 дней. В результате ни одного случая падежа или каких-либо отклонений в поведении животных не установлено, что свидетельствует о безвредности модифицированного вируса бешенства.

Реверсильные свойства модифицированного вируса бешенства изучали путем его пятикратных последовательных пассажей через мозг 10 белых мышей и последующего введения такому же количеству животных подкожно в дозе 0,1 и 0,3 см³. Заболевания животных при подкожном введении ни в одном случае не выявлено. Это свидетельствует об отсутствии реверсильности у модифицированного вируса бешенства.

Модифицированный фиксированный вирус бешенства «КМИЭВ-94» зарегистрирован нами в коллекции вирусов РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского». На указанный штамм вируса и вакцину на его основе получен патент на изобретение Республики Беларусь [20, 21].

Для накопления биомассы вакцинного вируса штамм «КМИЭВ-94» были испытаны два варианта. При первом варианте культуру клеток заражали в монослой по стандартной методике со сменой ростовой среды на поддерживающую и культивированием в течение 72–96 часов. В работе использовали культуру клеток ВНК-21 (с-13) и культуральные среды ФГМС и ГЛА.

Во втором варианте при посевной концентрации клеток ВНК-21 (с-13) в биореакторе 300–500 тыс. кл/мл культивирование интактных клеток продолжали до накопления 1,5–2,5 млн кл./мл, после чего осаждали клетки и декантировали ростовую питательную среду. Вирус вносили в дозе 0,5 и 1,0 ТКИД₅₀/кл. После контакта вируса с клетками в течение 60 минут вносили поддерживающую питательную среду до первоначального объема заполнения биореактора. Максимальное накопление титра вируса отмечено к 48–72 часам культивирования – 7,33 lg МЛД₅₀/мл при множественности заражения 1,0 ТКИД₅₀/кл и к 72 часам при дозе 0,5 ТКИД₅₀/кл – 7,5 lg МЛД₅₀/мл.

Подбирая оптимальные параметры суспензионного культивирования вируса с заражением клеток, установили, что при множественности заражения 0,15±0,07 ТКИД₅₀/кл оптимальная посевная концентрация клеток должна составлять 500–700 тыс. кл/мл, при дозе 0,6±0,14 ТКИД₅₀/кл – 800–1000 тыс. кл./мл. При заражении вирусом клеток в концентрации менее 500 тыс. кл/мл получить вирус с высокими титром было проблематично. Оптимальной дозой вируса при заражении во взвесь растущих клеток является доза 0,1 ТКИД₅₀/кл, при которой получен наивысший титр вируса.

Динамика накопления зараженных клеток сохранялась в логарифмической фазе до 48–62 часов, после чего интенсивность роста снижалась. При оптимальных условиях накопление происходило через 72 часа, при этом титр вируса составил 6,75–7,75 lg МЛД₅₀/мл.

Для изготовления приманок отрабаты-

валась рецептура из следующих компонентов: мясокостная мука, пшеничная мука, глицерин, желатин, вода, тетрациклина гидрохлорид в сочетаниях, приведенных в таблице.

Таблица. – Состав и соотношение ингредиентов для приготовления антирабических блистер-приманок для диких плотоядных животных

Наименование ингредиентов	Варианты приманок и соотношение ингредиентов (%)			
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4
Пшеничная мука	16	18	20	16
Мясокостная мука	16	14	12	19
Желатин	9,7	10	8	9,5
Глицерин	12	10	8	12
Тетрациклин	0,5	0,5	0,5	0,5
Вода	45,7	47,5	51,5	46

Наиболее оптимальным был вариант приманки № 4. Приманки, изготовленные по рецептуре этого варианта, были умеренно твердые, упругие, резиноподобной консистенции.

Они имели шайбообразную форму, диаметр 4,0–4,5 см, высоту 1,8–2,0 см, массу 30–35 г, цвет от светло-коричневого до темно-коричневого, запах мясокостной муки, стойкий.

Блистеры для приманок готовили из пропилена объемом 2,0–2,5 см³, полуовальной формы, покрывали с одной стороны алюминиевой фольгой. Вакцина фасовалась в блистеры с добавлением в качестве стабилизатора 10–12%-ного глицерина.

Блистерприманки готовили следующим образом. Растворяли в воде пищевой желатин при температуре 37 °С в течение 16–18 часов и добавляли согласно рецептуре ингредиенты до образования густой слабо текущей массы, которую разливали по формам слоем толщиной 2–3 мм. Чаще туда вкладывали блистеры с вакциной алюминиевой фольгой ко дну. После остывания содержимого формы заливали этой же массой до краев (высота 2 см) и оставляли до затвердения.

Оценка на стабильность к размягчению при температуре 20 и 30 °С показала, что приманки при 20 °С в течение 7 дней сохраняли первоначальную форму, а их структура вследствие подсыхания становилась более твердой. При температуре 30 °С

приманки в течение этого срока несколько изменяли форму, но блистер с вакциной оставался покрытым приманочной массой. Следовательно, разработанная приманка в летних условиях республики может сохранять свою форму и прочность в течение не менее 7 дней.

Ударопрочность приманок проверяли путем сбрасывания с высоты 30–50 м. После сбрасывания на земляную поверхность они сохраняли свою форму, что свидетельствует о возможности распространения их с авто- и авиатранспорта.

Для проверки сохранности вируса в блистерприманках при плюсовых температурах их хранили при температуре 10, 20, 30 °С.

Через 2, 3, 5 и 7 дней в вакцине, взятой из блистеров, определяли титр вируса путем внутримозгового заражения белых мышей.

В результате вирус бешенства наибольшую сохранность имел при температуре плюс 10 °С, теряя активность в течение 7 дней только на 0,5 lg ЛД₅₀/мл (с 7,4 до 6,9 lg ЛД₅₀/мл). При температуре плюс 20 °С активность вируса через 7 дней снизилась только на 2,6 lg ЛД₅₀/мл, а при температуре плюс 30 °С – на 4,2 lg ЛД₅₀/мл.

Полученные данные свидетельствуют о возможности применения сконструированной нами вакцины в природных условиях при положительных температурах в весенне-летний и осенний сезоны.

С целью определения поедаемости блистерприманок, попадания вакцины в организм и напряженности создаваемого гуморального иммунитета был поставлен опыт на 10 серонегативных собаках, которым после суточного голодания дали по одной приманке.

В результате все 10 собак съели приманки и прокусили блистеры с вакциной. Опорожняемость блистеров от вакцины составила 70–80 %. Собаки в течение 23 дней наблюдения оставались клинически здоровыми и сохраняли аппетит. Титр антител к вирусу бешенства у них на 23-й день после вакцинации варьировал от 4,0 до 6,0 $\log_2$. Антитела в таких титрах по нашим данным и данным литературы [15] защищают животных от заражения уличным вирусом бешенства.

Для установления срока годности сконструированной антирабической вакцины из штамма вируса «КМИЭВ-94» в блистерприманках при хранении в замороженном состоянии три ее серии были проверены на инфекционную, иммуногенную активность, стерильность и безвредность через 0, 6, 12, 18 и 24 месяца хранения при температуре минус 20 °С и ниже.

При этом установлено, что вакцина оставалась стерильной и безвредной в течение 24 месяцев. Однако титр вируса после 12-месячного срока хранения снизился. Поэтому в условиях хранения при минус 20 °С оптимальным сроком годности вакцины следует считать 12 месяцев с момента изготовления.

Производственные испытания сконструированной вакцины из штамма «КМИЭВ-94» в природных условиях проведены на территории Воложинского района Минской области, который является стационарно неблагополучным по бешенству. С 2001 по 2007 гг. случаи бешенства среди животных, в т.ч. диких, регистрировались ежегодно. Всего за 7 лет зарегистрировано 106 случаев заболевания, из них 81 случай (76 %) среди диких плотоядных, главным образом лисиц. Территория очагов по бешенству охватывает до 70 % общей площади района. По поводу покусов больными

бешенством животными ежегодно подвергались антирабическим прививкам до 25–30 тыс. человек. Профилактические мероприятия против бешенства диких плотоядных животных в районе в основном сводились к их отстрелу. Пероральную вакцинацию диких животных против бешенства в районе начали применять с 2003 г., однако она носила ограниченный, локальный характер с охватом не более 3,0–3,4 % площади неблагополучных урочищ. Только в первом квартале 2007 г. была осуществлена массовая кампания пероральной вакцинации диких плотоядных против бешенства с использованием 20 тыс. доз сконструированной и изготовленной в РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» вакцины из штамма вируса «КМИЭВ-94» и охватом 1300 км² (83 %) площади неблагополучных урочищ.

Раскладывание приманок производили вручную из расчета 15–20 штук на 1 км². Через 3–5 дней после раскладки приманок с помощью охотников и лесников выборочно осуществили контроль их поедаемости дикими плотоядными. Она составила в среднем 80–85 %.

С целью контроля эффективности пероральной иммунизации диких плотоядных против бешенства в разных природных очагах через 45–60 дней после иммунизации были отстреляны 8 лисиц, у которых были взяты зубы для исследования на наличие тетрациклиновых колец в шлифах и пробы крови на наличие противовирусных антител. Было установлено наличие тетрациклиновых колец и положительная сероконверсия (0,5 МЕ) в 6 образцах, что свидетельствует о поедании лисицами минимум одной вакциносодержащей приманки.

После проведения пероральной иммунизации в природно-очаговых зонах в 2007 г. было зарегистрировано 6, а в 2008 г. – всего 1 случай бешенства у лисицы.

Кроме Воложинского района, сконструированная вакцина для пероральной вакцинации диких плотоядных животных в 2007 г. применена в 17 лесхозах респуб-

лики. Всего было разбросано 235820 вакциносодержащих приманок. Вакцина распространялась из расчета в среднем 15 приманок на 1 км². Обработано 15721 км² неблагополучных и угрожаемых по бешенству угодий.

Полученные данные свидетельствуют о снижении заболеваемости бешенством диких плотоядных в зонах распространения приманок и в целом по республике, а следовательно, об эффективности пероральной вакцинации диких плотоядных против бешенства с помощью предложенной вакцины.

Так, если в 2006 г. в республике было зарегистрировано 1614 случаев бешенства у животных, то в 2007 г. после проведенной кампании пероральной вакцинации – только у 898. В 2009 г. с нашим участием распространено 221067 и в 2010 г. – 116470 антирабических блистерприманок в 11 районах Брестской, 4 районах Гродненской, в 2 районах Гомельской и в 20 районах Минской областей.

Однако это не оказало значительного влияния на эпизоотическую ситуацию по бешенству в республике, так как вакцина применена в ограниченных масштабах с охватом не более 10–25 % площадей.

В последующие годы объем пероральной антирабической вакцинации диких плотоядных был значительно увеличен за счет привлечения для этой цели авиации и дополнительной закупки вакцины «Рабивак 0/333» из штамма ERA G333 производства Всероссийского НИИ микробиологии и вирусологии (г. Покров).

Так, весной и осенью 2011 г. с помощью авиации в приграничных с Литовской республикой районах было обработано, соответственно, 39996 и 40339 км² территории и разбросано 925,8 и 892,5 тыс. вакциносодержащих приманок. Весной 2012 г. с помощью авиации обработано 58890 км² территории приграничных с Литовской и Латвийской республиками районов и разбросано 1400 тыс. вакциносодержащих приманок.

Всего за 2011–2012 гг. и первую половину 2013 г. различными способами

(ручным и с помощью авиации) охвачено пероральной антирабической вакцинацией свыше 150 тыс. км² территории угодий республики, распространено свыше 5,5 млн вакциносодержащих приманок. В результате количество случаев бешенства у животных снизилось с 1372 в 2011 г. до 507 в 2012 г., 452 в 2013 г. и 345 в 2014 г.

В 2014–2018 гг. ОАО «БелВитунифарм» и РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» ежегодно производили для распространения в республике свыше 1,5 млн антирабических приманок. Это оказало существенное влияние на стабилизацию заболеваемости животных бешенством.

В 2015 г. бешенством заболело 584 животных, в 2016 г. – 534, в 2017 г. – 472 и в 2018 г. – 664 животных, 37 % заболевших животных составляют лисицы.

Таким образом, применение вакциносодержащих блистерприманок в республике способствовало в последние годы снижению заболеваемости бешенством диких плотоядных животных, что в свою очередь привело к снижению случаев возникновения указанного заболевания и среди домашних животных.

Однако для практической ликвидации (снижения до единичных случаев) заболеваемости животных бешенством объем пероральной вакцинации диких плотоядных в республике должен быть значительно увеличен (до ежегодного распространения 2,6–3,0 млн приманок), и она должна проводиться в течение длительного времени (не менее 3 лет после последнего случая заболевания), о чем свидетельствует опыт Чехии, Германии и других европейских стран, практически ликвидировавших данное заболевание среди диких плотоядных животных [22].

Следует отметить, что производимые в настоящее время в Беларуси и в других странах вакциносодержащие антирабические приманки имеют недостатки. При поедании приманок плотоядные животные в среднем в 50 % случаев не раскусывают содержащийся в них плотный блистер с вакциной, а выплевывают его. Поэтому у

отстреленных животных часто обнаруживают только тетрациклиновую метку, а вируснейтрализующие антитела в сыворотке крови отсутствуют. Все это снижает противозооотическую эффективность пероральной иммунизации диких плотоядных животных против бешенства с помощью существующих вакциносодержащих приманок.

Поэтому нами была сконструирована и разработана технология изготовления высокоиммуногенной безблистерной вакциносодержащей приманки для пероральной вакцинации диких плотоядных животных против бешенства.

Разработанная антирабическая вакцина для перорального применения в форме безблистерной приманки состоит из фиксированного вируса бешенства (штамм «КМИЭВ-94»), мясокостной и пшеничной муки, желатина, глицерина и тетрациклина.

Технология изготовления вирусосодержащих безблистерных приманок заключается в следующем. На 400 приманок берут 2,5 кг мясокостной муки, 1,55 кг пшеничной муки и тщательно перемешивают. 300 г желатина растворяют в 1,0 л горячей воды и добавляют туда 450 см³ глицерина, раствор вносят в смесь мясокостной и пшеничной муки, тщательно перемешивают и охлаждают до температуры плюс 4 °С. В полученную массу вносят 1000 см³ вакцинного вируса с титром 6,5–7,0 lg MICLD₅₀/мл, добавляют 50,0 г тетрациклина (метка для учета поедаемости приманок животными) и после тщательного перемешивания в пластиковых формах готовят приманки массой 20–30 г, которые сразу замораживают и хранят при температуре минус 20–25 °С.

Эффективным способом размножения фиксированного вируса бешенства (штамм «КМИЭВ-94») для вакцины является биореакторный способ на клетках ВНК-21/13 со средой Игла MEM, когда вирус в количестве 0,14–0,6 ТКИД₅₀/кл вносят в реактор одновременно с клетками и собирают урожай на 3–4-е сутки культивирования. Титр вируса при этом составлял 6,5–7,0 lg MICLD₅₀/мл. При роллерном культивировании титр был ниже.

Разработанная вакциносодержащая антирабическая приманка при плюсовых температурах в течение 5 дней сохраняла инфекционную активность вируса, форму и консистенцию, хорошо поедалась плотоядными животными как в лабораторных (5 голов собак), так и природных условиях (7 голов лисиц) и через 1–3 мес. после поедания приводила к выработке у них вируснейтрализующих антител в защитных титрах 5,6–8,0 log₂.

Применение разработанной вакциносодержащей безблистерной антирабической приманки в природных условиях экологически безопасно, так как входящий в ее состав вирус бешенства «КМИЭВ-94» является глубоко аттенуированным, апатогенным для мышевидных грызунов и плотоядных животных при пероральном введении, не обладает реверсильностью и через 15 дней хранения приманки при температуре плюс 20 °С инактивируется.

Высокая эффективность, безвредность, простота технологии изготовления и относительная дешевизна разработанной приманки свидетельствуют о перспективности ее внедрения в практику, что позволит снизить заболеваемость животных и людей бешенством и даст предполагаемый экономический эффект в республике свыше 5 млн руб. в год [23].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Беларусь является стационарно неблагополучной страной по бешенству. Основным источником распространения заболевания являются дикие плотоядные животные, главным образом лисицы. Наиболее эффективным и осуществимым в природных условиях способом профилактики среди них бешенства является пероральная вакцинация.

Исходя из этого, РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» (ранее БелНИВИ) в 70-х годах XX столетия одним из первых в СССР начал исследования по разработке указанного метода профилактики бешенства.

В институте впервые в ветеринарной практике СССР были селекционирова-

ны культуральный вакцинный вирус бешенства – штамм «71 БелНИИЭВ-ВГНКИ» и более биологический активный штамм «КМИЭВ-94» (71 БелНИИЭВ-ВГНКИ М), отработаны эффективные методы их культивирования, состав, технология изготовления и применения вакцинных антирабических приманок.

Налажено производство вакциносо-держающих приманок в РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеселеского» и ОАО «БелВитунифарм».

Применение указанных приманок в ряде республик СССР и стран СНГ (Беларусь, Россия, Украина, Литва, Грузия)

оказалось эффективным и способствовало в обработанных регионах снижению заболеваемости животных бешенством.

В связи с тем, что входящие в состав приманок блистеры с вакциной не всегда прокусываются животными, выплевываются и вакцина не попадает на слизистую оболочку ЖКТ, с целью повышения эффективности указанного метода профилактики бешенства нами разработана безблистерная вакциносодержащая антирабическая приманка, которая при экспериментальных испытаниях показала хорошую эффективность, безопасность и перспективность в практическом применении.

ЛИТЕРАТУРА

1. *A simian-adenovirus-vectored rabies vaccine suitable for thermostabilisation and clinical development for low-cost single-dose pre-exposure prophylaxis* / C. Wang [et al.] // *PLoS Negl Trop Dis.* – 2018, Oct 29; 12(10).
2. *Estimating the economic impact of canine rabies to Viet Nam 2005–2014* / Stephanie A. Shwiff [et al.] // *PLoS Negl Trop Dis.* – 2018, Oct 29; 12(10).
3. Folman, E. H. Oral vaccination of captive arctic foxes with lyophilized SAG 2 rabies vaccine / E. H. Folman, D. G. Ritter, D. W. Harbauer // *Jornal of Wildlife Diseases.* – 2004. – Vol. 40, № 2. – P. 328–334.
4. *Genetic characterisation of attenuated SAD rabies virus strains used for oral vaccination of wildlife* / L. Geue [et al.] // *Vaccine.* – Vol. 26. – P. 3227–3235.
5. *Oral vaccination of wildlife against rabies: differences among host species in vaccine uptake efficiency* / B. Hundt [et al.] // *Vaccine.* – Vol. 35, № 32. – P. 3938–3944.
6. Mishaeva, N. P. Rabies in Belarus / N. P. Mishaeva, W. A. Kovalev, A. V. Slavinskij // *Rabies Bulletin Europe.* – 2007. – Vol. 30. – P. 5–8.
7. *Emergency oral rabies vaccination of foxes in Italy in 2009-2010: identification of residual rabies foci at higher altitudes in the Alps.* / P. Mulatti [et al.] // *Epidemiol. Infect.* – 2012. – Vol. 140, № 4. – P. 591–98.
8. *Elimination of terrestrial rabies in Germany using oral vaccination of foxes* / T. Müller [et al.] // *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* – 2012. – Vol. 125, № 5–6. – P. 78–90.
9. *Spatio-temporal use of oral rabies vaccines in fox rabies elimination programmes in Europe* / T.F. Müller [et al.] // *PLOS Neglected Tropical Diseases.* – 2015. – Vol. 9, № 8. – P. e0003953.
10. Wandeler, A. I. Oral immunization of wildlife against rabies: concept and first field experiments / A. I. Wandeler, S. Capt, A. Kappeler, R. Hauser // *Reviews of infectious diseases.* – 1988. – Vol. 10. – P. 649–653.
11. WHO Expert Consultation on Rabies Third report. – 2018, pp. 6.
12. Аттенуированный штамм вируса бешенства Rabies virus fix КМИЭВ-94-штамм антиген, вакцина культуральная на его основе для пероральной иммунизации плотоядных животных против бешенства и способ получения вакцины: пат. 13935 Респ. Беларусь, МПК А61К39/205 (2009). С1 / Д. В. Бучукури, Н. А. Ковалев, А. А. Гусев, М. М. Усень, П. А. Красочко, Т. А. Савельева, Т. Н. Буркун ; заявитель РНИДУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеселеского».
13. Биологические препараты для профилактики вирусных заболеваний животных: разработка и производство в Беларуси / П. А. Красочко [и др.] / под ред. Н. А. Ковалева. – Минск: Беларуская навука, 2016. – 492 с.

14. Вакциносодержащая безблистерная приманка для пероральной иммунизации плотоядных животных против бешенства / Д. В. Бучукури [и др.] // Весці Нац. акад. навук Беларусі. Сер. аграр. навук. – 2019. – № 3. – С. 334–343.

15. Вакцина для пероральной иммунизации диких плотоядных животных против бешенства и способ приготовления вакцины : а.с. № 1120701 ; заявл. 2206.84 / авт. Н. А. Ковалев, соавт. : Т. Д. Сорокина и др.

16. Ковалев, Н. А. Пероральная иммунизация животных против бешенства / Н. А. Ковалев, А. С. Шашенко, В. П. Давиденко // Материалы респ. науч.-практ. конф. по зоонозным болезням. – Минск, 1974. – С. 60–61.

17. Ковалев, Н. А. Противозооотическая эффективность вакцины из штамма вируса бешенства КМИЭВ-94 для пероральной иммунизации диких плотоядных животных против бешенства / Н. А. Ковалев, Д. В. Бучукури, М. М. Усеня // Весці Нац. акад. навук Беларусі. Сер. аграр. навук. – 2009. – № 3. – С. 86–91.

18. Ковалев, Н. А. Актуальные задачи профилактики бешенства среди диких плотоядных животных / Н. А. Ковалев, Д. В. Бучукури, М. М. Усеня // Ветеринарная наука – производству : науч. тр. РНИУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского НАНБ». – Минск, 2005. – Вып. 38. – С. 139–141.

19. Ковалев, Н. А. Изучение бешенства и разработка средств и способов его профилактики в Беларуси / Н. А. Ковалев, Д. В. Бучукури // Весці Нац. акад. навук Беларусі. Сер. аграр. навук. – 2014. – № 4. – С. 96–103.

20. Ковалев, Н. А. Иммунопрофилактика бешенства в современных условиях / Н.А. Ковалев // Ветеринарная наука – производству : сб. науч. тр. РНИУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского НАНБ». – Минск, 2005. – Вып. 38. – С. 278–284.

21. Ковалев, Н. А. Состояние и проблемы профилактики зооантропонозных болезней животных в XXI веке / Н. А. Ковалев, П. А. Красочко // Аграрная наука на рубеже XXI века : материалы общего собрания Академии аграрных наук Республики Беларусь, Минск, 16 ноября 2000 г. – Минск, 2000. – С. 231–234.

22. Таршис, М. Г. Бешенство животных / М. Г. Таршис, Н. А. Ковалев, П. П. Кузнецов. – Минск : Урожай, 1990. – 175 с.

23. Штамм «Rabies fix-71» БелНИИЭВ-ВГНКИ № 29 для приготовления вакцины против бешенства: СССР № 1120701 ; заявл. 2206.84 / авт. Н. А. Ковалев, соавт. : Т. Д. Сорокина и др.



**ПРЕПАРАТ
ВЕТЕРИНАРНЫЙ**

КМП ПЛЮС



- содержит железо, йод, селен, цинк, марганец, кобальт;
- для профилактики заболеваний крупного рогатого скота и свиней, обусловленных дефицитом входящих в его состав биозлементов;
- для лечения телят, больных энзоотическим зобом, железодефицитной анемией, беломышечной болезнью, токсической дистрофией печени;
- для улучшения воспроизводительной функции коров и свиноматок, профилактики у них родовой и послеродовой патологии;
- для повышения жизнеспособности новорожденного молодняка

www.BIEVM.BY

