

ІНАКТИВОВАНА АУТОВАКЦИНА З МІСЦЕВОГО ШТАМУ STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE ПРОТИ ДИПЛОКОКОВОЇ ІНФЕКЦІЇ

Ю. Г. Сторчак, аспірант*

**Львівський національний університет ветеринарної медицини
та біотехнологій імені С. З. Гжицького**

Основною проблемою сучасного тваринництва є отримання і вирощування здорового молодняку. Багатогранність факторів і систем захисту створили умови для біологічного функціонування організму тварин. Актуальними є дослідження диплококової інфекції, а саме, в плані розробки інактивованої аутовакцини, яка б володіла високою імуногенністю.

Білі миші, вакцинація, інфекція, імунітет, імуногенність, прополіс.

Вступ. Захворювання органів дихання – це одна з основних причин економічних збитків у тваринництві. Як правило, перші ознаки респіраторної патології з'являються через 5-10 днів після технологічного перегрупування тварин.

Відомо, що в основі патології респіраторного тракту лежать порушення цілісності сурфактантної вистілки у структурній одиниці легенів, гемодинаміки та секреторної діяльності слизової оболонки верхніх дихальних шляхів. Виникнення респіраторної патології в організмі тварин знаходиться у прямій залежності від гіперчутливості наднирників, обумовленої стресами. Викид великої кількості стероїдних гормонів у периферійну кров пригнічує функції імунної системи організму.

Респіраторні захворювання телят реєструють у різних регіонах України, за поширеністю вони займають друге місце після шлунково-кишкових захворювань. До групи респіраторних захворювань належить диплококова інфекція. У хворих спостерігається зниження середньодобового приросту, продуктивних і племінних якостей. Лікування та профілактика даного захворювання залишається важливим питанням, яке вимагає своєчасного і кваліфікованого його вирішення [1]. Саме тому, в даний час, особливо актуальною є розробка та подальше впровадження у практику нових високоефективних й економічно виправданих схем профілактики респіраторних захворювань бактеріальної етіології [8].

Літературні дані свідчать, що причиною диплококозу є проникнення в організм умовно-патогенної мікрофлори в результаті зниження загальної резистентності, яка часто стійка до ряду антибактеріальних препаратів [1, 5].

В сучасних умовах вакцинопрофілактика розглядається як один з провідних масових ефективних засобів боротьби з інфекціями. Як стверджує Медуніцин Н. В., прагнення створити вакцини з високоочищених антигенів, які в більшості випадків мають слабку імуногенність, призвело до необхідності застосування ад'ювантів, що підсилюють імунну відповідь [6].

* Науковий керівник: Кісера Я. В., д. вет. н., професор

Розробка ефективних ад'ювантів – носіїв антигенів, які забезпечують формування вираженого і тривалого збереження імунітету – є одним із найскладніших завдань у виробництві вакцинних препаратів. Тому, розробка нових ад'ювантів набуває особливої актуальності у зв'язку з постійною необхідністю посилювати імунну відповідь на обширну кількість нових антигенів, для більшості яких характерна слабка імуногенність [6]. Використання ад'ювантів має й економічну доцільність, оскільки вакцини з ад'ювантами вимагають мінімальної витрати антигену [10].

Термін «ад'ювант» (АД) часто використовується як синонім поняття «імуномодулятор», хоча, насправді, імуностимулятори – це, як правило, однокомпонентні речовини, що володіють власними імуностимулюючими або імуномодулюючими властивостями, а АД-комбінації або АД-системи можуть складатися з декількох різних речовин із різними функціями та активністю [9]. Тому, нами було вирішено провести дослідження з використанням, у якості ад'юванта, спиртового розчину прополісу, який володіє антибіотичною та антимікотичною діями, стимулює імунобіологічні процеси, підвищуючи фагоцитарну активність лейкоцитів.

Мета досліджень: розробка та випробування на лабораторних тваринах нешкідливої та високо імуногенної інактивованої аутовакцини проти збудника диплококової інфекції з використанням прополісу, імуностимулюючого складника, в якості ад'юванта.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження проводились на кафедрі епізоотології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького та у Комунальній міській клінічній лікарні швидкої медичної допомоги м. Львова. Було розроблено та виготовлено дослідну серію вакцини з місцевого штаму збудника *Streptococcus pneumoniae*. Зразки вакцини були досліджені на предмет відсутності контамінації бактеріальної та грибової мікрофлори, згідно з ДСТУ 4483 [2], та мікоплазмами, згідно з ДСТУ 4613 [3]. Інактивацію проводили фізичним методом. Культуральними та біологічними методами була визначена повнота інактивації вакцинного препарату. У випадку відсутності росту мікроорганізмів на поживних середовищах та ознак захворювання й загибелі імунізованих мишей, дану вакцину вважали повністю інактивованою.

Концентрацію інокуляту визначали за допомогою денситометра DEN-1. Інтерпретацію результатів (у вигляді одиниць Мак-Фарланда) здійснювали у відповідні числові значення концентрацій бактеріальних суспензій та їх оптичну щільність при λ у 550 нм (табл. 1).

1. Інтерпретація результатів у відповідні числові значення концентрацій бактеріальних суспензій та їх оптичну щільність при λ 550 нм

Стандарти Мак-Фарланда	Склад	Інтерпретація	
	Концентрація BaSO_4	Концентрація бактерій	Теоретична оптична щільність
0,5	$2,4 \cdot 10^{-5}$ моль/л	$0,15 \cdot 10^9$ м.к./мл	0,125
1	$4,8 \cdot 10^{-5}$ моль/л	$0,3 \cdot 10^9$ м.к./мл	0,25
2	$9,6 \cdot 10^{-5}$ моль/л	$0,6 \cdot 10^9$ м.к./мл	0,5
3	$1,44 \cdot 10^{-4}$ моль/л	$0,9 \cdot 10^9$ м.к./мл	0,75
4	$1,92 \cdot 10^{-4}$ моль/л	$1,2 \cdot 10^9$ м.к./мл	1,0
5	$2,4 \cdot 10^{-4}$ моль/л	$1,5 \cdot 10^9$ м.к./мл	1,25
10	$4,8 \cdot 10^{-4}$ моль/л	$3,0 \cdot 10^9$ м.к./мл	2,5

Дослідна бактеріальна суспензія № 1	2*10 ⁹ м.к./мл	1,67
Дослідна бактеріальна суспензія № 2	4*10 ⁹ м.к./мл	3,33
Дослідна бактеріальна суспензія № 3	6*10 ⁹ м.к./мл	5,0

З метою визначення нешкідливості аутовакцини, її антигенної та імуногенної активності, у дослідженнях використовували білих мишей.

Для цього сформували чотири групи лабораторних тварин: контрольну і три дослідні групи по 10 голів у кожній групі. Тваринам 1-ї дослідної групи вакцинацію проводили аутовакциною із концентрацією інокуляту у 2 млрд. м.к., 2-ї дослідної групи – із концентрацією у 4 млрд. м.к., 3-ї дослідної групи – у 6 млрд. м.к. Контрольній групі тварин замість аутовакцини вводили фізіологічний розчин.

Спостереження за тваринами проводили упродовж 21 доби. Під час проведення дослідження на лабораторних тваринах проводили реєстрацію зміни загального стану мишей, наявності реактивних змін у місці введення препарату. З метою визначення імуногенності препарату дослідні тварини піддавались дворазовому введенню вакцини у дозі 0,3 мл. Через 14 діб, після проведення повторного щеплення, тварин заражали польовим штамом *Streptococcus pneumoniae* у дозі 0,5 мл [4, 7]. Тварин контрольної групи, через 14 діб після повторного введення фізіологічного розчину, заражали польовим штамом *Streptococcus pneumoniae* у дозі 0,5 мл.

Вакцина вважалась нешкідливою у тому випадку, якщо упродовж усього періоду спостереження за дослідними тваринами усі білі миші залишились живими, а також, не було наявних місцевих й симптоматичних проявів, які могли бути спричинені вакциною.

Результати досліджень. Згідно отриманих результатів досліджень, впливає, що дослідні зразки вакцини, виготовленої із місцевих штамів збудника, відповідають вимогам ДСТУ 4483 та ДСТУ 4613. Не було виявлено контамінації препарату бактеріальною, а також грибовою мікрофлорою, зразки вакцини пройшли повну інактивацію та виявились нешкідливими для дослідних лабораторних тварин. Під час спостереження за піддослідними тваринами при підшкірному та внутрішньочеревному введенні вакцини у дозі 0,3 см³ у 2-й та 3-й дослідній групі не було зареєстровано випадків захворювань тварин, їх загибелі та запальних реакцій у місці введення вакцини. В 1-й дослідній групі зареєстровано загибель однієї лабораторної тварини після введення польового штаму збудника.

В контрольній групі, після зараження польовим штамом збудника, тварини не володіли несприйнятливістю організму до збудника інфекції.

Одержані результати досліджень свідчать (табл. 2), що дворазове введення вакцини у білих мишей стимулює забезпечення формування несприйнятливості організму до зараження їх летальними дозами збудника стрептококової інфекції.

2. Імуногенні властивості вакцини на білих мишах

Групи тварин	Кількість тварин	Концентрація збудника у препараті	Заражено голів	% захисту
Контрольна група	10	-	10	0
Дослідна група №1	10	2*10 ⁹ м.к.	10	90

Дослідна група №2	10	4*10 ⁹ м.к.	10	100
Дослідна група №3	10	6*10 ⁹ м.к.	10	100

Із застосуванням вакцини, виготовленої з місцевого штаму збудника, спостерігається формування імунітету у тварин до антигенів *Streptococcus pneumoniae*. Захист тварин дослідних груп, під час експериментального зараження, був у межах від 90 до 100 %.

При визначенні нешкідливості та імуногенності дослідної серії вакцини, було встановлено, що у піддослідних тварин не спостерігається поствакцинальних ускладнень.

Клінічні спостереження за щепленими тваринами свідчать про те, що експериментальні зразки вакцини є нешкідливими, застосування її не викликає негативних наслідків, а саме: у тварин 2-ї та 3-ї дослідних груп не реєстрували набряків та абсцесів у місці введення, підвищення місцевої температури та температури тіла, погіршення загального стану лабораторних тварин. Під час клінічних спостережень у тварин не було зареєстровано побічних реакцій та відхилень від фізіологічних норм, характерних для даного виду тварин.

Висновки

1. Дослідні зразки вакцини, виготовленої з місцевих штамів збудника, відповідають вимогам ДСТУ 4483 та ДСТУ 4613.

2. Дворазове введення аутовакцини з місцевого штаму збудника з інтервалом у 14 діб у білих мишей стимулює забезпечення формування несприйнятливості організму до зараження їх летальними дозами збудника диплококової інфекції.

3. Під час клінічного спостереження за піддослідними тваринами не було зареєстровано побічних реакцій на введення вакцини та відхилень від фізіологічних норм.

Список літератури

1. Басова Н. Ю. Респираторные болезни телят // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2007. – № 3. – С. 57-61.

2. ДСТУ 4483:2005. Препарати ветеринарні імунобіологічні. Методи визначення бактеріальної і грибної контамінації [Електронний ресурс]. – Режим доступу : <http://www.csm.kiev.ua/nd/nd.php?b=1>.

3. ДСТУ 4613:2006 Препарати біологічні для ветеринарної медицини. Метод визначення контамінації мікоплазми [Електронний ресурс]. – Режим доступу : <http://www.csm.kiev.ua/nd/nd.php?b=1>.

4. Клінічна діагностика внутрішніх хвороб тварин / В. І. Левченко, В. В. Влізло, І. П. Кондрахін та ін. – Біла Церква, 2004. – 608 с.

5. Козлов Р. С. Пути оптимизации мониторинга, профилактики и фармакотерапии пневмококковых инфекций. Автореф. дис. докт. мед. наук. – Смоленск, 2004. – 46 с.

6. Медуницин Н. В., Покровский В. И. Основы иммунопрофилактики и иммунотерапии инфекционных болезней / Н. В. Медуницин, В. И. Покровский. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 528 с.

7. Методичні рекомендації для оцінки та контролю імунного статусу тварин / Р. П. Маслянюк, І. І. Олексюк та ін. – Львів, 2001. – 87 с.

8. Науменко В. И. Диагностика смешанных респираторных инфекций у телят // Сб. научн., тр. Витебского вет. ин-та. – 1992. – Т. 29. – С. 46-47.

9. Bruno G. The perfect mix: recent progress in adjuvant research / G. Bruno // Nature Rev. Microbiol. – 2007. – Vol. 5. – P. 505-517.

10. Plotkin S. L. A short history of vaccination / S. A. Plotkin, S. A. Plotkin, W. A. Orenstein // Vaccines. – Philadelphia: WB Saunders, 2004. – 4th edn. – P. 1-15.

Основной проблемой современного животноводства считается получение и выращивание здорового молодняка. Многогранность факторов и систем защиты создали условия для биологического функционирования организма животных. Актуальными являются исследования диплококковой инфекции, а именно, в плане разработки инаktivированной аутовакцины с высоким уровнем иммуногенности.

Белые мыши, вакцинация, инфекция, иммунитет, иммуногенность, прополис.

The main problem of modern farming is growing and getting healthy calves. Many factors and protection systems have created conditions for the normal functioning of the body. The researching of diplococcus infection is topical now, namely in terms of development in activated autovaccine that would had a high immunogenicity.

White mice, vaccination, infection, immunity, immunogenicity, propolis.