

ИЗУЧЕНИЕ АНТИГЕННЫХ И ИММУНОГЕННЫХ СВОЙСТВ ОПЫТНЫХ ОБРАЗЦОВ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ ТЕЛЯТ

Опарина Н.В.

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

Современное сельское хозяйство и, в частности, животноводство сталкивается с огромным количеством различных заболеваний инфекционной и неинфекционной природы. Лечение данных заболеваний требует немалых усилий и материальных затрат. Поэтому выражение о том, что болезнь легче предупредить, чем лечить, в данных условиях является очень актуальным.

Особую опасность представляют инфекционные заболевания, которые способны к быстрому распространению среди поголовья животных. А в условиях неполноценного кормления, при нарушении условий содержания и эксплуатации, а также при воздействии других стресс-факторов заболевание может вызвать и условно-патогенная микрофлора.

Наибольший ущерб животноводству наносят острые желудочно-кишечные болезни молодняка, этиологические факторы которых многообразны. Независимо от причин, вызывающих желудочно-кишечные заболевания, тяжесть их течения, продолжительность и исход определяют условно-патогенные энтеробактерии.

Экологически безопасным средством борьбы с желудочно-кишечными инфекциями по сравнению с применением различных антибактериальных препаратов является специфическая профилактика заболеваний, которая позволяет предупредить возникновение и развитие болезни, создавая активный иммунитет. Кроме того, возникновение заболевания можно также предупредить, стимулируя естественную резистентность организма животного к различным чужеродным агентам, в том числе и инфекционным.

Вакцинация имеет существенные преимущества не только как профилактическая процедура, которую можно провести в подходящее для животновода время, она экономически выгодна по сравнению с затратами на лечение, и опасность побочных явлений при ее применении сводится до минимума [1, 2, 7].

Идеальная вакцинация создает иммунитет аналогичный или даже более сильный, чем иммунитет, возникающий после обычного переболевания. Приведенные в действие факторы специфического иммунитета при непосредственном разрушении чужеродного микроорганизма могут оказаться не более эффективными, чем неспецифические факторы. Однако, специфическая иммунная система имеет неоспоримое преимущество благодаря своей направленности, так как она запоминает данный антиген и при повторном его появлении реагирует быстро и специфически, образуя в продолжение длительного времени защитные вещества (антитела), предотвращающие повторную инфекцию [6, 8].

Иммунитет, который возникает после однократного введения инактивированного антигена, снижается до незначительного уровня в течение нескольких недель. В этот период его можно вновь быстро восстановить введением второй дозы того же антигена. Применение в составе вакцин различных адьювантов значительно увеличивает их эффективность [5].

Современная биологическая промышленность предлагает различные виды вакцин, каждый из которых имеет свои преимущества. Большинство живых вакцин создают надежный иммунитет, однако в некоторых случаях напряженность иммунитета непосредственно связана с остаточной вирулентностью аттенуированного

штамма. Живые вирусные вакцины обладают тем преимуществом, что создают раннюю неспецифическую защиту путем стимуляции процессов интерферонообразования уже через 1-2 дня после введения. Инактивированные вакцины менее иммуногенны, чем живые, но они не вызывают опасений по поводу остаточной вирулентности. По своему составу вакцины бывают моновалентные (против одного серотипа возбудителя), поливалентные (против нескольких серотипов одного вида), ассоциированные (против нескольких видов возбудителей) [3, 5].

На практике для иммунизации стельных коров и молодняка применяют моновакцины против колибактериоза и сальмонеллеза, реже применяют ассоциированные вакцины (вакцина ОКЗ, Россия), хотя болезни молодняка, как правило, вызывают комплексы бактерий, среди которых ведущее место по частоте выделения занимают кишечная палочка, сальмонелла, клебсиелла, протей. В Беларуси отсутствует технология по изготовлению вакцины, включающей одновременно антигены против вышеперечисленных инфекций.

В связи с этим, нами была поставлена задача, разработать вакцину против желудочно-кишечных инфекций телят и отработать оптимальное соотношение компонентов в данной вакцине.

Материалы и методы. Работа проводилась в отделе эпизоотологического и иммунологического мониторинга и в виварии РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеселского».

Для приготовления опытных образцов вакцины против желудочно-кишечных инфекций телят использовали 3 адгезивных штамма кишечной палочки *E. coli* F41-M (КМИЭВ-98), *E. coli* Att25-A20:O78 (КМИЭВ-39А), *E. coli* K99 (КМИЭВ-38), энтеротоксигенный штамм *E. coli* O18 (КМИЭВ-18), 2 штамма сальмонелл *S. dublin* (КМИЭВ В-115) и *S. typhimurium* (КМИЭВ В-128), а также штаммы протей и клебсиеллы *Proteus mirabilis* (КМИЭВ-44) и *Klebsiella pneumoniae* (ВГНКИ №24). Из адгезивных штаммов кишечной палочки и штаммов сальмонелл получали поверхностные протективные антигены методом экстракции солянокислым гидроксиламином, остальные штаммы бактерий инактивировали формалином.

Были подготовлены 3 лабораторных образца вакцины. Первый образец содержал поверхностные протективные антигены в разведении 1:4, а корпускулярные антигены в концентрации 4,5 млрд м. т. на 1 мл вакцины в соотношении 1:1. Второй образец содержал поверхностные протективные антигены в разведении 1:2, корпускулярные антигены в концентрации 3,0 млрд м. т. на 1 мл вакцины в соотношении 4 части *Klebsiella pneumoniae* и по 1 части *Proteus mirabilis* и *E. coli* O18, а третий образец – нативные (неразведенные) поверхностные протективные антигены, корпускулярные антигены в концентрации 2,2 млрд м. т. на 1 мл вакцины в соотношении 2 части *Klebsiella pneumoniae* и по 1 части *Proteus mirabilis* и *E. coli* O18. Объемные соотношения субъединичных и клеточных компонентов были равны. В качестве адьюванта использовали гель гидроокиси алюминия.

Стерильность, безвредность, реактогенность образцов вакцины определяли по общепринятым методикам.

Опыты по оценке антигенных свойств полученных образцов проводили на морских свинках массой 250-300 г. для чего сформировали три опытные и одну контрольную группы. Иммунизацию проводили двукратно каждым образцом вакцины, с интервалом 14 дней, подкожно в дозе 0,5 см³. Кровь у всех морских свинок для определения титра антител в РА отбирали на 14-е и 28-е сутки после вакцинации.

Определение иммуногенных свойств образцов вакцины против желудочно-кишечных инфекций телят проводили на белых мышах массой 14-16 г, которых иммунизировали двукратно синтервалом 14 дней подкожно в дозе 0,3 см³. Мышей заражали методом пула на 14-й день после вакцинации в дозе 2ЛД₅₀ пула. Для определения ЛД₅₀ пула мы смешивали все вакцинные штаммы таким образом, чтобы в

1 мл смеси бактерий содержалось по 2 ЛД₅₀ каждого штамма. Заражали по 4 мыши последовательными двукратными разведениями и высчитывали дозу ЛД₅₀ пула по общепринятой методике. Учет павших животных вели в течение 10 дней.

Результаты исследования и их обсуждение. Все опытные образцы вакцины против желудочно-кишечных инфекций телят представляли собой прозрачную жидкость соломенно-желтого цвета с белым осадком, легко разбивающимся при встряхивании.

Реактогенность трех образцов вакцины была низкой. Иммунизированные лабораторные животные оставались клинически здоровыми на протяжении всего периода наблюдения. Однако у 16% белых мышей было обнаружено частичное выпадение шерсти и припухлость в области холки, со временем рассасывающаяся, у морских свинок изменений не обнаружено.

Результаты исследований антигенных свойств вакцины показали, что все опытные образцы вакцины против желудочно-кишечных инфекций телят вызывают выработку антител и достоверный рост титра антител у морских свинок. Уровень титров антител у морских свинок представлен в таблице.

Таблица - Уровень антител у морских свинок после вакцинации опытными образцами вакцины

Антигены	Образец № 1	Образец № 2	Образец № 3	Контроль
1	2	3	4	5
На 14 день после вторичной иммунизации				
E. coli A20	4,75±1,26	5,0±1,41	7,88±0,63	1,0±0,81
E. coli F41	3,63±0,95	4,38±1,25	8,12±0,85	1,13±0,85
E. coli K99	3,13±0,63	3,63±0,95	7,63±0,75	1,63±1,25
E. coli O18	12,38±0,48	7,38±0,75	10,13±0,85	3,25±0,5
S. dublin	5,25±1,26	7,88±0,63	8,63±0,75	1,5±1,0
S. typhimurium	5,25±0,98	5,63±1,11	7,63±0,75	1,63±1,25
K1 pneumoniae	3,38±1,11	3,88±1,03	8,13±0,63	2,63±0,48
Pr. mirabilis	14,25±0,98	7,13±1,44	10,25±0,98	2,63±1,11
На 28 день после вторичной иммунизации				
E. coli A20	5,25±1,26	5,75±1,26	8,38±0,85	1,38±0,48
E. coli F41	4,89±0,63	4,75±0,98	8,63±0,48	1,88±0,63
E. coli K99	3,38±0,48	4,13±1,03	8,0±0,82	1,63±1,25
E. coli O18	12,75±0,96	8,5±1,29	10,63±0,48	3,63±0,48
S. dublin	6,25±0,98	8,38±0,48	8,88±0,63	2,25±0,98
S. typhimurium	5,5±1,29	6,13±0,63	8,0±0,82	2,0±0,82
K1 pneumoniae	4,25±0,50	4,38±1,38	8,38±0,75	2,75±0,5
Pr. mirabilis	14,25±0,98	8,75±1,26	11,38±0,48	3,13±0,63

Примечание - P < 0,001

Из таблицы мы видим, что титр антител к поверхностным протективным антигенам кишечной палочки и сальмонелл для первых двух образцов вакцины составляет от 3,38±0,48 до 8,38±0,48 log₂, тогда как для третьего образца этот показатель не опускается ниже 8,0 log₂. К корпускулярным антигенам E. coli O18 и Pr. mirabilis наиболее оптимальными титры антител были при иммунизации морских свинок третьим образцом вакцины. K1 pneumoniae №24 вызывала слабую выработку титра антител даже при концентрации 2 млрд м. т. на 1 мл вакцины, поэтому в третьем образце вакцины мы заменили ее на K1 pneumoniae КМИЭВ В-132 с концентрацией микробных клеток 1 млрд на 1 мл вакцины.

На основании данных по изучению иммуногенной активности образцов вакцины

против желудочно-кишечных инфекций телят установлено, что наибольшими протективными свойствами обладает образец №3, обеспечивая выживаемость 79% вакцинированных мышей, для образца №1 исследуемый показатель составлял 58%, а для образца №2 - 71%. Это может быть связано с тем, что из-за большого количества антигенных компонентов вакцины их концентрация поверхностных протективных антигенов кишечной палочки и сальмонелл снижается (хотя данные антигены и отделены от цельной клетки, т.е. очищены от балластных веществ), поэтому дополнительное разведение протективных антигенов снижает их активность в вакцине. А вот цельноклеточные антигены *E. coli* O18 и *Pr. mirabilis* обладают достаточно высокой антигенной активностью поэтому для них достаточно невысокой концентрации – 600млн м. т. на 1 мл вакцины.

Выводы. Полученные образцы вакцины для профилактики желудочно-кишечных инфекций животных оказались безвредными и умеренно реактогенными для лабораторных животных.

Образец №3 обладает более выраженной иммуногенной активностью для белых мышей по сравнению с образцом №1 и образцом №2.

Результаты иммунизации морских свинок показали, что соотношение компонентов в образце №3 способствует выработке титра антител от 8.0 ± 0.82 до $11.38 \pm 0.48 \log_2$ при минимальной антигенной нагрузке на организм животного.

Список литературы

1. Медуниницн, Н.В. Вакцинология / Н.В. Медуниницн. – М.: Триада-Х. 1999. – с.95.
2. Бедоева, З.М. Тест-системы для иммунологического мониторинга и прогнозирования острых кишечных инфекций животных и усовершенствование средств специфической профилактики: автореф. дис...докт. биол. наук: 16.00.03; 03.00.23/З.М. Бедоева. - М. 2006. 51с.
3. Ушкалов В. А. Энтеротоксигенность условно-патогенных бактерий как маркер их патогенности // Материалы международной науч. конфер. «Общая эпизоотология: иммунологические, экологические и методологические проблемы» 20 - 22 сентября Харьков.1995. - С. 200 - 202.
4. Эффективность применения комбинированных вакцин серии Комбовак. Хитрова А.Е., Сергеев В.А., Алипер Г.И., Верховский О.А.// Ветеринария. - 2006. - №9. - С.17.
5. Протективная активность вакцины ОКЗ. Дервишов Д.А., Воронин Е.С., Бедоева З.М., Шведов В.В.// Ветеринария – 1999. - №4. – С.23.
6. Ниязов Ф.А. Проблемы ассоциированных прививок в ветеринарии. – Ташкент: Фан. – 1991. – 76с.
7. Ломако Ю.В. Адгезивные и энтеротоксигенные свойства штаммов кишечной палочки, выделенных у больных колибактериозом телят // Ветеринарная наука производству: Науч. тр. РНИУП «ИЭВ им. С.Н.Вышелесского НАН Б» / Науч. ред. Н.Н. Андросик – Минск: Бел. изд. Тов-во «Хата». 2002. - Т. 36. – С. 42 – 45.
8. Максимович В.В. Проблемы профилактики и ликвидации инфекционных болезней в республике Беларусь // Уч. записки ВГАВМ: Мат.-лы III междунар. науч.-практ. конф. - Витебск. 1999. - Т. 35, ч. 1. - С. 93 - 95.