

ВИВЧЕННЯ РЕАКТОГЕННОСТІ ТА АНТИГЕННИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ СЕРІЇ «ВАКЦИНИ ІНАКТИВОВАНОЇ ПРОТИ САЛЬМОНЕЛЬОЗІВ ПТИЦІ»

О. В. Майборода¹

Національний науковий центр «Інститут експериментальної та клінічної ветеринарної медицини»

*Проведені дослідження з вивчення реактогенності та антигенних властивостей експериментальної серії «Вакцини інактивованої проти сальмонельозів птиці» на лабораторних тваринах. Встановлено, що виготовлений препарат є стабільним, повністю інактивованим та нешкідливим. Доза експериментальної серії інактивованої вакцини (0,3 см³) містить не менш ніж 10⁹ КУО кожного штаму (*Salmonella Enteritidis* М та *Salmonella Typhimurium* В). Встановлено, що експериментальна серія інактивованої вакцини при дворазовому введенні лабораторним тваринам (білим мишам) не спричиняє пригнічення, зниження апетиту, місцевих реакцій на введення препарату та забезпечує зростання захисних антитіл на 14-ту добу після ревакцинації до рівня 9,6±0,9 log₂. В подальшому може бути застосована у дослідях на птиці.*

Сальмонельоз — інфекційна хвороба тварин і людини, яка є досить поширеною у багатьох країнах світу з інтенсивно розвиненими тваринництвом і птахівництвом. Галузь птахівництва щорічно несе величезні збитки від сальмонельозної інфекції птиці, що зумовлені зниженням несучості курей, кількості запліднених яєць, високою летальністю ембріонів, зменшенням приростів живої маси молодняка, а також значними витратами на діагностичні та лікувально-профілактичні заходи. Важливою проблемою на сьогодні залишається й висока захворюваність людей на харчові токсикоінфекції, спричинені сальмонелами, часто з летальним наслідком, особливо серед дітей та людей похилого віку [2, 6].

Традиційно для профілактики й лікування бактеріальних хвороб птиці застосовують антимікробні препарати — антибіотики, фторхінолони, пробіотики. Однак, ці засоби не завжди є ефективними у боротьбі із більшістю бактеріозів птиці, особливо — із сальмонельозною інфекцією. Безконтрольне використання антимікробних препаратів з профілактичною метою тягне за собою цілий ряд негативних наслідків — імуносупресію, дисбактеріоз, алергічні реакції, виникнення патогенних і умовно патогенних штамів бактерій, резистентних до антибіотиків, а також обмеження щодо використання у харчових цілях продуктів забою від птиці, обробленої такими препаратами. Згідно з рекомендаціями ВООЗ, антибіотики не рекомендується широко використовувати у боротьбі із сальмонельозною інфекцією, а в комплексі заходів слід застосовувати специфічну профілактику. На даний час в Україні зареєстровано такі зарубіжні інактивовані полівалентні вакцини проти сальмонельозів птиці, які містять інактивовані антигени *Salmonella Enteritidis*, *Salmonella Typhimurium* [1, 3–5].

Таким чином, можна вважати актуальним напрям досліджень щодо розробки вітчизняних вакцин проти сальмонельозу птиці.

¹Науковий керівник – доктор ветеринарних наук, професор, академік НААН Стегній Б.Т.

Метою нашої роботи було вивчення реактогенності та антигенних властивостей експериментальної серії «Вакцини інактивованої проти сальмонельозів птиці» на лабораторних тваринах, виготовленої на основі розробленої технології.

Матеріали і методи. Для виготовлення експериментальних серій інактивованої вакцини проти сальмонельозів птиці було використано музейні штами *Salmonella Enteritidis M* та *Salmonella Typhimurium B*. Бактерійну масу кожного штаму було накопичено окремо на МПБ із додаванням 10 % сироватки крові ВРХ та 1 % глюкози (режим інкубування 48 год за температури 37 °С), інактивація (додавання 1 % формаліну, режим інактивації 24 год за температури 37 °С). Завись сальмонел була осаджена центрифугуванням та двічі відмита стерильним ФБФР (режим центрифугування 3 тис. об/хв. впродовж 20 хв). З осаду було виготовлено суспензію з концентрацією 6 млрд. КУО/см³. Обидві інактивовані бакмаси із музейних штамів сальмонел об'єднували у співвідношенні 1:1, після чого до неї додавали 70 % ад'юванту (Montanide ISA-70). Виготовлені антигени підлягали контролюванню на відсутність контамінації сторонньою мікрофлорою відповідно до ДСТУ 4483, відсутність контамінації мікоплазмами — відповідно до ДСТУ 4613, повноту інактивації — за загальноприйнятими методиками, стабільність — шляхом центрифугування у режимі 2000 об./ хв. 10 хв. у мірних пробірках. Реактогенність вакцини визначали на лабораторних тваринах (білих мишах) методом підшкірного введення препарату на двох групах тварин за принципом аналогів: дослідна (n=20) та контрольна (n=20). Тваринам дослідної групи вводили препарат підшкірно, у дозі 0,3 см³ двічі із терміном ревакцинації 14 діб. Тваринам контрольної групи препарат не вводили. Бактеріологічні дослідження проводили за стандартними методиками [7]. Антигенність препарату досліджували шляхом дворазового підшкірного введення та контролювання динаміки синтезу специфічних антитіл методом ККРА (крово-крапельної реакції аглютинації) за стандартними методиками на предметних скельцях.

Результати й обговорення. Виготовлено 2 експериментальні серії інактивованої вакцини, кожна містить 30 % антигенної основи (інактивована бакмаса штамів *Salmonella Enteritidis M* та *Salmonella Typhimurium B*, не менш ніж 10⁹ КУО кожного штаму у дозі) та 70 % ад'юванту (Montanide ISA-70). При контролюванні одержаних серій експериментальних серій інактивованих вакцин було встановлено, що отримані серії препаратів стерильні та повністю інактивовані. При визначенні стабільності емульсій отриманих серій встановлено, що серія № 1 недостатньо стабільна (частка водної фази у верхній частині пробірки дорівнювала 20 % від загального об'єму проби), серія № 2 — стабільна (частка водної фази у верхній частині пробірки дорівнювала 8 % від загального об'єму проби). При вивченні реактогенності експериментальної серії інактивованої вакцини із штамів *Salmonella Enteritidis M* та *Salmonella Typhimurium B* за щепленими та інтактними тваринами вели спостереження протягом 14-ти діб після ревакцинації. Ознак пригнічення, зниження апетиту, місцевих реакції на введення препарату відмічено не було. Наприкінці терміну спостереження тварини обох груп були евтаназовані, у них було відібрано внутрішні органи для проведення бактеріологічних досліджень. Після проведення досліджень збудників сальмонельозу ізолювано не було. Встановлено, що експериментальна серія інактивованої вакцини проти сальмонельозів птиці не є реактогенною.

Для визначення наявності специфічних антитіл та антигенних властивостей препарату були відібрані проби крові від тварин дослідної та контрольної груп через 7 діб після першого введення вакцини та через 7 та 14 діб після ревакцинації, були досліджені за допомогою ККРА. Для виконання ККРА використовували «Антиген для діагностики сальмонельозів тварин групи В у реакції аглютинації» РП ВВ-00226-06-10 та «Антиген для діагностики сальмонельозів тварин групи Д в реакції аглютинації» РП ВВ-00227-06-10 (обидва – виробництва ННЦ «ІЕКВМ»), результати представлені на рисунку.

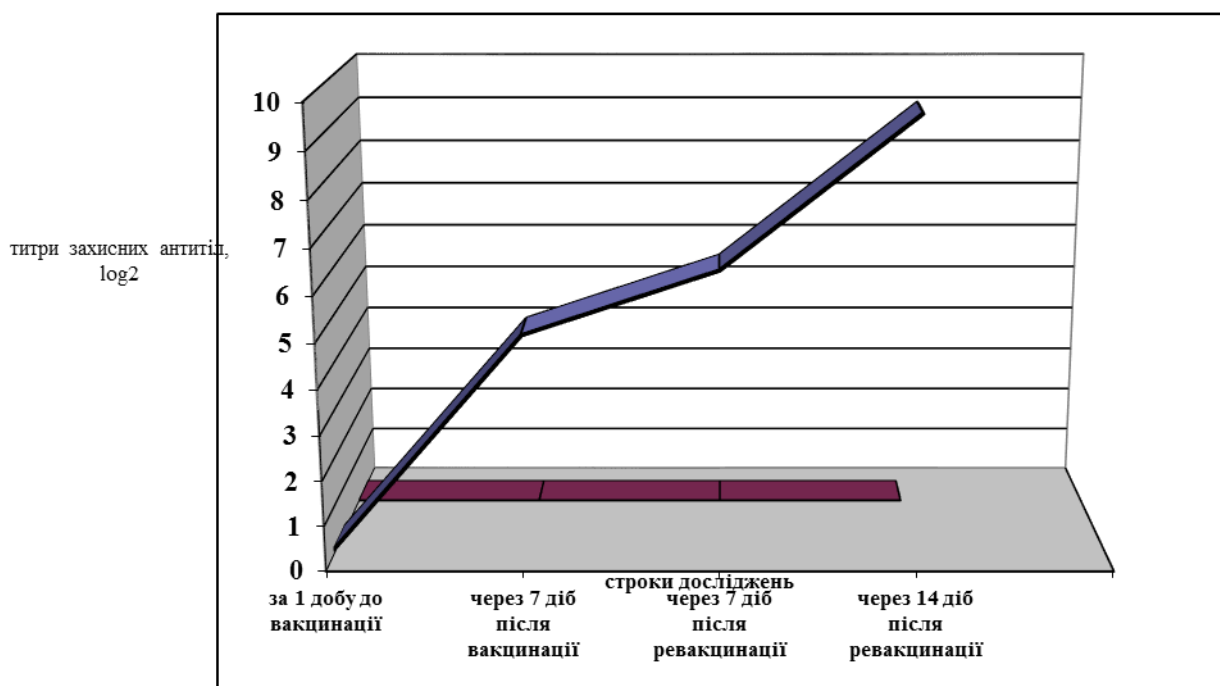


Рис. Динаміка рівня захисних антитіл у мишей дослідної та контрольних груп

У тварин дослідної групи виявлено зростання рівня захисних антитіл як до збудників сальмонельозів групи Д, так і групи В, починаючи з 7-ої доби після вакцинації ($4,9 \pm 0,7 \log_2$) до 14-ої доби після ревакцинації ($9,6 \pm 0,9 \log_2$). Серед тварин контрольної групи серопозитивних особин виявлено не було. Таким чином, виготовлена серія вакцини у подальшому може бути застосована в дослідках на птиці.

ВИСНОВКИ

Експериментальна серія інактивованої вакцини проти сальмонельозів птиці є стабільною (частка водної фази у верхній частині пробірки дорівнювала 8 % від загального об'єму проби). Доза кожної серії інактивованої вакцини ($0,3 \text{ см}^3$) містить не менш ніж 10^9 КУО кожного штаму. Встановлено, що експериментальна серія інактивованої вакцини при введенні лабораторним тваринам (білим мишам) не спричиняє пригнічення, зниження апетиту, місцевих реакцій на введення препарату, тобто не є реактогенною.

Перспективи подальших досліджень. Інактивована вакцина забезпечує синтез специфічних антитіл та в подальшому може бути застосована у дослідках на птиці.

STUDY OF REACTOGENICITY AND ANTIGENIC PROPERTIES EXPERIMENTAL SERIES "INACTIVATED VACCINE AGAINST SALMONELLOSIS POULTRY"

Olga V. Mayboroda

NSC «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine»

S U M M A R Y

The studies include of reactogenicity and antigenic properties of experimental series "Inactivated vaccine against salmonellosis poultry" on laboratory animals. Found that the produced

drug a stable, fully inactivated and harmless. The dose of experimental series inactivated vaccine (0.3 cm^3) comprises at least 10^9 CFU of each strain (Salmonella Enteritidis M and Salmonella Typhimurium B). Found that a series of experimental inactivated vaccine does not cause depression, loss of appetite, local infusion reactions and ensures the growth of protective antibodies on the 14th day after the booster to the level of $9,6 \pm 0,9 \log_2$ when administered twice in laboratory animals (white mice). In prospect can be used in experiments in poultry.

**ИЗУЧЕНИЕ РЕАКТОГЕННОСТИ И АНТИГЕННЫХ СВОЙСТВ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ СЕРИИ
«ВАКЦИНЫ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ПРОТИВ САЛЬМОНЕЛЛЕЗОВ ПТИЦЫ»**

О. В. Майборода

ННЦ «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины»

А Н Н О Т А Ц И Я

Проведены исследования по изучению реактогенности и антигенных свойств экспериментальной серии «Вакцины инактивированной против сальмонеллезов птицы» на лабораторных животных. Установлено, что изготовленный препарат является стабильным, полностью инактивированным и безвредным. Доза экспериментальной серии инактивированной вакцины ($0,3 \text{ см}^3$) содержит не менее 10^9 КОЕ каждого штамма (Salmonella Enteritidis M и Salmonella Typhimurium B). Установлено, что экспериментальная серия инактивированной вакцины при двукратном введении лабораторным животным (белым мышам) не вызывает угнетение, снижение аппетита, местных реакции на введение препарата и обеспечивает рост защитных антител на 14-е сутки после ревакцинации до уровня $9,6 \pm 0,9 \log_2$. В дальнейшем может быть применена в опытах на птице.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. *Dorea F. C.* Effect of Salmonella Vaccination of Breeder Chickens on Contamination of Broiler Chicken Carcasses in Integrated Poultry Operations / F. C. Dorea, D. J. Cole, C. Hofacre // Applied and environmental microbiology — Dec. — 2010. — Vol. 76, № 23. — P. 7820–7825.
2. *Foley S. L.* Population Dynamics of Salmonella enterica Serotypes in Commercial Egg and Poultry Production / S. L. Foley, R. Nayak, I. B. Hanning, T. J. Johnson // Appl. Environ. Microbiol. — July. — 2011. — № 77(13). — P. 4273–4279.
3. *Johnston C. E.* Immunological Changes at Point-of-Lay Increase Susceptibility to Salmonella enterica Serovar Enteritidis / C. E. Johnston, C. Hartley, A.-M. Salisbury, P. Wigley // PLoS One, October. — 2012. — Vol. 7(10). — P.1–9.
4. *Kangas S.* Costs of two alternative Salmonella control policies in Finnish broiler production / S. Kangas, T. Lyytikäinen, J. Peltola et al. // Acta Veterinaria Scandinavica — Dec. — 2007. — Vol.49:35.
5. Multiplicity of Salmonella entry mechanisms, a new paradigm for Salmonella pathogenesis / P. Velge et al. // Microbiology Open 2012. — Vol. 1(3). — P. 243–258.
6. *Nesbitt A.* Integrated surveillance and potential sources of Salmonella Enteritidis in human cases in Canada from 2003 to 2009 / A Nesbitt, A. Ravel, R. Murray, R. McCormick // Epidemiol. Infect. (2012). — Vol. 140. — P. 1757–1772.
7. Определитель бактерий Берджи : пер. с англ. / под ред. Дж. Хулта, Н. Крига, П. Снита [и др.]. — М.: Мир, 1997. — 432 с.