

ЕПІЗООТОЛОГІЯ, МІКРОБІОЛОГІЯ, ІМУНОЛОГІЯ

УДК 619:616.98:579.843.95:616-091.8:636.5

ВПЛИВ РІЗНИХ АД'ЮВАНТІВ НА ІМУНОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ СУБОДИНИЧНОЇ ВАКЦИНИ ПРОТИ ПАСТЕРЕЛЬОЗУ ПТИЦІ

Біла Н.В., к. вет. н.,
Дніпропетровська ДС ННЦ „ІЕКВМ”, м. Дніпропетровськ

Анотація. Виявлено, що рівень накопичення специфічних антитіл до бактерії *Pasteurella multocida* залежав не тільки від співвідношення антигенів і ад'ювантів, а й імуногенних властивостей самих ад'ювантів. Оптимальним є застосування вакцини проти пастерельозу птиці з ад'ювантом Montanide ISA 70 при співвідношенні його з антигеном 1:2.

Ключові слова: птиця, пастерельоз, субодиначна вакцина, щеплення, ад'ювант, антитіла.

Актуальність проблеми. В умовах складної епізоотичної ситуації з гострих інфекційних хвороб у світі, специфіки комплектування птахогосподарств України птицею з країн дальнього та ближнього зарубіжжя, актуальність вакцинопрофілактики підвищується. Пропонуються нові шляхи профілактики вірусних хвороб. Застосовується значна кількість живих та інактивованих вакцин [4].

Ефективність інактивованих вакцин залежить від кількості і якості антигену, природи і властивостей ад'ювантів, від технології виготовлення препарату і способу його застосування. Важливим моментом у технології виготовлення вакцин є інактивація мікроорганізмів. З цією метою частіше застосовують формалін. Однак встановлено, що формалін не являє собою ідеальний ад'ювант, тому що він знижує антигенну і імуногенну активність бактеріальних антигенів [1, 3].

Масляні ад'юванти сучасного рівня, які входять до складу інактивованих вакцин, дозволяють виготовляти як монвалентні, так і асоційовані форми вакцин. Додаткові переваги останніх, такі як: профілактика одночасно декількох захворювань та, відповідно, зниження кількості вакцинацій і стресових факторів, зменшення трудових витрат на проведення імунопрофілактики зробили асоційовані вакцини найбільш популярними [2, 5].

Потрібно також зазначити, що зараз для оцінки якості вакцинних препаратів існує система ряду критеріїв. Так, оцінку вакцин за показником нешкідливості проводять за критеріями токсичності (вірулентності), реактогенності, стерильності досліджуваного препарату. Імуногенність оцінюють шляхом контрольного зараження або ж визначенням антигенної активності за допомогою серологічних реакцій [6].

Враховуючи наведе вище, можна стверджувати те, що на сьогоднішній момент зберігається необхідність подальших досліджень в напрямку пошуку нових ад'ювантів, які не впливають на протективні антигени.

Завдання дослідження. проаналізувати вплив різних ад'ювантів на імуногенні властивості субодиначної вакцини проти пастерельозу птиці та визначити найбільш ефективний із них.

Матеріали і методи. Для дослідження впливу субодиначної вакцини проти пастерельозу птиці на імунну систему при використанні різних співвідношень антигенів і ад'ювантів у досліді використано 30 голів 22-денного віку каченят, було сформовано 6 груп тварин по 5 голів у кожній за наступною схемою:

Таблиця 1

Схема досліджень щодо визначення ефективності різних ад'ювантів

Ад'юванти:	Доза щеплення (см ³)	Співвідношення антигену та ад'юванту відповідно (%)	Групи
KE-10-01	0,5	2:1	1
		1:1	2
		50:50	
		1:2	3
Montanide ISA 70	0,5	35:60	4
		2:1	
		1:1	5
		50:50	6
1:2			
		35:60	

Від піддослідної птиці відбиралась кров на 7, 14, 21, 28, 35 добу для визначення специфічних титрів антитіл до *Pasteurella multocida* в реакції аглютинації.

Результати дослідження. Отримані результати свідчать про те, що введення субодиночної вакцини проти пастерельозу птиці, в якій у якості ад'юванта застосовуються Montanide ISA 70 (співвідношення з антигеном - 1:2) відмічали більш стабільну і пролонговану імунну відповідь, ніж при використанні ад'юванта KE-10-01. При цьому у першому випадку були зареєстровані вищі статистично достовірні показники рівня антитілоутворення. Так, при включенні у склад вакцини проти пастерельозу ад'юванту Montanide ISA 70 у співвідношенні його з антигеном 1:2 титр антитіл до *Pasteurella multocida* на 7 добу становив $5,5 \pm 0,30 \log_2$ з досягненням максимуму на 14 добу - $6,3 \pm 0,27 \log_2$ і подальшим утриманням на зазначеному рівні до 35 доби - $6,4 \pm 0,29 \log_2$. При застосуванні ад'юванту KE-10-01 при тих же умовах реєстрували поступове підвищення вмісту антитіл до 14 доби (7 доба - $4,5 \pm 0,23 \log_2$; 14 доба - $5,4 \pm 0,32 \log_2$). Потім на 21 добу констатували зниження рівня антитілоутворення до $4,1 \pm 0,25 \log_2$ з подальшою стабілізацією (28 доба - $5,3 \pm 0,30 \log_2$; 35 доба - $5,4 \pm 0,33 \log_2$) (таблиця 2).

Таблиця 2

Динаміка зміни титру антитіл (\log_2) після введення субодиночної вакцини проти пастерельозу з різними ад'ювантами (співвідношення антиген : ад'ювант - 1:2)

Група	Період досліджень, доба				
	7	14	21	28	35
№ 6 (n= 5)	$5,5 \pm 0,30$	$6,3 \pm 0,27$	$6,2 \pm 0,24$	$6,0 \pm 0,35$	$6,4 \pm 0,29$
№ 3 (n= 5)	$4,5 \pm 0,23$	$5,4 \pm 0,32$	$4,1 \pm 0,25$	$5,3 \pm 0,30$	$5,4 \pm 0,33$

Слід відзначити, що незважаючи на достатній захист птиці в обох випадках, рівень накопичення специфічних антитіл до *Pasteurella multocida* при використанні ад'юванту Montanide ISA 70 (Франція) був достовірно вищим, ніж при застосуванні KE-10-01 (Україна), що відображено на рисунку 1.

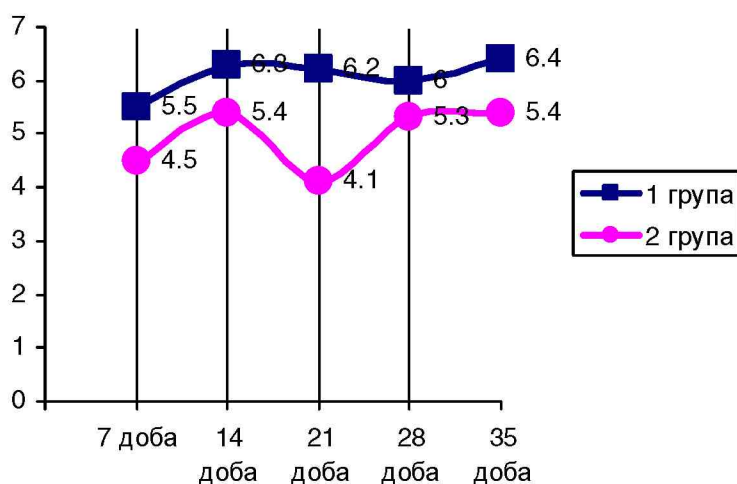


Рис. 1 Динаміка вмісту антитіл (\log_2) при застосуванні субодиночної вакцини проти пастерельозу птиці (співвідношення антиген:ад'ювант – 1:2)

Хоча при включенні до складу вакцини ад'юванта KE-10-01 були зареєстровані достовірно нижчі показники імунітету, але їх рівень забезпечував надійний захист проти *Pasteurella multocida*: вміст специфічних антитіл становив: на 7 добу - $4,6 \pm 0,29 \log_2$ з незначним зниженням на 14 і 21 день ($3,5 \pm 0,25$ і $3,7 \pm 0,12 \log_2$) з подальшим стабільним збільшенням (28 доба – $4,7 \pm 0,24 \log_2$, 29 доба - $4,8 \pm 0,26 \log_2$) (таблиця 3, рисунок 2).

Таблиця 3

Результати середніх титрів антитіл \log_2 в сироватці крові щепленої птиці субодиночною вакциною проти пастерельозу птиці з ад'ювантами Montanide ISA 70 та KE-10-01 в співвідношенні 1:2

Група	Період досліджень, доба				
	7	14	21	28	35
№ 5 (n=5)	$5,1 \pm 0,16$	$5,6 \pm 0,28$	$5,4 \pm 0,23$	$5,4 \pm 0,22$	$5,7 \pm 0,30$
№ 2 (n=5)	$4,6 \pm 0,29$	$3,5 \pm 0,25$	$3,7 \pm 0,12$	$4,7 \pm 0,24$	$4,8 \pm 0,26$

Включення до субодиночної вакцини проти пастерельозу птиці ад'юванту Montanide ISA 70 у співвідношенні з антигеном 1:1 забезпечило отримання високих титрів до *Pasteurella multocida*.

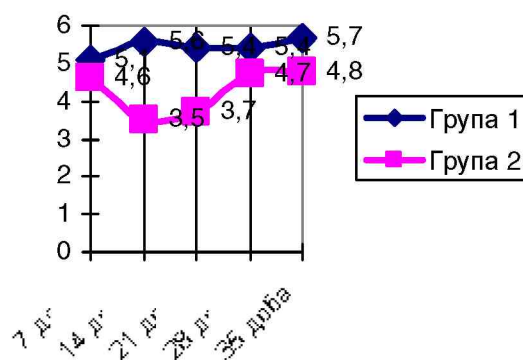


Рис. 2 Динаміка вмісту антитіл (\log_2) при застосуванні субодиночної вакцини проти пастерельозу птиці (співвідношення антиген:ад'ювант – 1:1)

На 7 добу після щеплення рівень антитілоутворення складав $5,1 \pm 0,16 \log_2$ з подальшим досягненням та утриманням максимальних значень в межах $5,4 \pm 0,22$ - $5,7 \pm 0,30 \log_2$ (рисунок 1.2.2).

Дослідження імуногенних властивостей субодиночної вакцини проти пастерельозу птиці, яка містить антиген до *Pasteurella multocida* та різні ад'юванти у відношенні 1:2, свідчать про те, що включення до її складу ад'юванта Montanide ISA 70 дозволило отримати високий вміст специфічних антитіл, починаючи з 7 доби ($5,0 \pm 0,33 \log_2$) на протязі всього періоду спостереження (знаходився в межах $4,7 \pm 0,23$ - $5,0 \pm 0,24 \log_2$).

При застосування ад'юванту KE-10-01 рівень антитілоутворення був достовірно нижчим (коливався від $3,3 \pm 0,19$ до $4,3 \pm 0,19 \log_2$) із мінімальним значенням на 14 добу ($3,0 \pm 0,25 \log_2$) (таблиця 4).

Таблиця 4

Результати дослідження сироватки крові птиці при щепленні субодиночною вакциною проти пастерельозу птиці з різними ад'ювантами у співвідношенні 2:1 (середні титри антитіл, \log_2)

Група	Період досліджень, доба				
	7	14	21	28	35
№ 4 (n=5)	$5,0 \pm 0,33$	$4,9 \pm 0,31$	$4,7 \pm 0,23$	$4,8 \pm 0,19$	$5,0 \pm 0,24$
№1 (n=5)	$3,7 \pm 0,23$	$3,0 \pm 0,25$	$3,3 \pm 0,19$	$4,2 \pm 0,22$	$4,3 \pm 0,19$

Враховуючи кращу імунну відповідь організму птиці на введення субодиночної вакцини проти пастерельозу, в склад якої входить ад'ювант Montanide ISA 70, було визначено оптимальне співвідношення ад'юванту та антигену (рисунок 3).

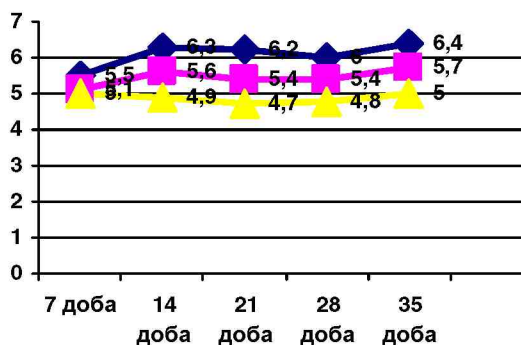


Рис. 3 Динаміка вмісту специфічних антитіл при застосуванні у складі субодиночної вакцини проти пастерельозу птиці ад'юванта Montanide ISA 70

Таким чином, при проведенні досліджень по вивченню імуногенної дії субодиночної вакцини проти пастерельозу птиці при включенні до її складу різних ад'ювантів було виявлено, що рівень накопичення специфічних антитіл до бактерії *Pasteurella multocida* у всіх експериментальних групах залежав не тільки від співвідношення антигенів і ад'ювантів, а й імуногенних властивостей самих ад'ювантів.

У всіх групах птиці, не залежно від співвідношення антигену і ад'юванту більш високі титри антитіл до *Pasteurella multocida* були зареєстровані при додаванні до субодиночної вакцини проти пастерельозу птиці ад'юванта Montanide ISA 70.

Аналізуючи отримані результати, можна стверджувати, що оптимальним є застосування вакцини проти пастерельозу птиці з ад'ювантом Montanide ISA 70 при співвідношенні його з антигеном 1:2. При цьому були отриманий достовірно більший рівень антитілоутворення до *Pasteurella multocida*, ніж при використанні у якості наповнювача KE-10-01.

Таким чином всі комбінації вакцинних препаратів були антигеноактивними і формували напружений імунітет у піддослідній птиці. Але кращі показники мав ад'ювант Montanide ISA 70 (Франція). Він стимулював адекватне формування імунної відповіді, що характеризувалось поступовим підвищенням рівня специфічних антитіл, а також активним зниженням імуносупресії і запальної реакції в організмі експериментальної птиці.

Наведене вище дозволяє рекомендувати для впровадження у практику щеплення проти пастерельозу птиці субодиночною вакциною, до складу якої у якості ад'юванта входить Montanide

ISA 70 при його співвідношенні із антигеном 1:2.

Висновки

1. Ад'юванти (KE-10-01 та Montanide ISA 70) спричиняють виражений вплив на імуногенні властивості субодиничної вакцини проти пастерельозу птиці.
2. Максимальна антигенутворююча відповідь з боку організму до *Pasteurella multocida* отримана при включенні до складу вакцини ад'юванту Montanide ISA 70 у співвідношенні його із антигеном 1:2.

Література

3. Болезни домашних и сельскохозяйственных птиц: Пер. с англ./ Под ред. Кэлнека Б.У. М.: Аквариум, 2003. - С.169 - 180.
4. Воробьев А. А., Васильев Н. Н. Адъюванты.- М.: Медицина, 1969. - 206 с.
5. Рождественская Т.Н. Инактивированные вакцины для профилактики бактериальных болезней птиц/ Рождественская Т.Н., Панкратов С.В., Гаврилов С.Н. // III Международный конгресс по птицеводству 10-13 апреля 2007 г., М., 2007.-С.187-190.
6. Селиверстов В.В. Пастереллезы животных // Ветеринария. - 2003. -№ 10. - С. 3 - 5.
7. Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines for List A and B Diseases of Mammals, Birds and Bees. Paris: OIE, 2004. - P. 537 - 547.
8. Veterinary Medicines Directorate. Guidelines for the production and control of veterinary bacterial vaccines // Central Vet. Laboratory, New Haw, Weybridge, U.K. MAL., 1991. P. 76.

**ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ АДЪЮВАНТОВ НА ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
СУБЪЕДИНИЧНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА ПТИЦЫ**

Белая Н.В., к. вет. н.

Днепропетровская ОС ННЦ «ИЕКВМ», г. Днепропетровск

Аннотация. Установлено, что уровень накопления специфических антител к бактерии *Pasteurella multocida* зависел не только от соотношения антигенов и адъювантов, но и иммуногенных свойств самих адъювантов. Оптимальным является использование вакцины против пастереллеза птицы с адъювантом Montanide ISA 70 при соотношении его с антигеном 1:2.

Ключевые слова: птица, пастереллез, субъединичная вакцина, вакцинация, адъювант, антитела.

**EFFECT OF DIFFERENT IMMUNOLOGICAL ADJUVANT PROPERTIES OF SUBUNIT VACCINES
AGAINST PASTEURELLOSIS OF POULTRY**

Belaya N.V., k.vet.sc.

Dnipropetrovsk RS of the NRC «IECVM», Dnepropetrovsk

Summary. Revealed that the accumulation of specific antibodies to the bacterium *Pasteurella multocida* depended not only on the ratio of antigen and adjuvant, and immunogenic and adjuvant properties themselves. The best is the use of poultry vaccines against pasteurellosis with adjuvant Montanide ISA 70 in its ratio of 1:2 antigen.

Key words: bird Pasteurellosis, subunit vaccines, immunization, adjuvant, antibodies.