

УДК 639:616.981.55

© 2016

Г.Ф. Риженко,
кандидат
біологічних наук

О.І. Горбатюк,
В.О. Андріяшук,

О.М. Жовнір,
кандидати
ветеринарних наук

Т.М. Уховська

С.М. Тютюн

*Інститут ветеринарної
медицини НААН*

РОЗРОБКА ТА ВИПРОБУВАННЯ АСОЦІЙОВАНОЇ ВАКЦИНИ ВЕЛЬШИКОЛІСАН ПРОТИ ШЛУНКОВО-КИШКОВИХ БАКТЕРІОЗІВ СВИНЕЙ

Мета. Розробити ефективну асоційовану вакцину проти найпоширеніших бактеріозів свиней. **Методи.** Мікробіологічний, біологічний, серологічний, статистичний. Проведено мікроскопічні дослідження, вивчено особливості культурального росту ізолятів збудників бактеріальних хвороб. **Результати.** Дослідження засвідчили антигенну активність вакцини, оскільки у щеплених кролів вірогідно зростали титри специфічних антитіл. Імуногенність препарату забезпечувала збереженість 83,3 % щеплених білих мишей після зараження збудниками *S. perfringens* і *E. coli*. Імунобіологічну перебудову в організмі щеплених свиней підтверджено титрами специфічних аглютининів, а економічну ефективність — збереженими коштами в свиногосподарствах у розмірі 240–320 тис. грн за рік. **Висновки.** Розроблено антигенноактивну, високоімуногенну, економічно ефективну асоційовану вакцину вельшиколісан проти анаеробної дизентерії, інфекційної ентеротоксемії, набрякової хвороби, колибактеріозу тварин.

Ключові слова: клостридіози, ешерихіоз, асоційована вакцина, імуногенність.

Нині на території України через торгівельно-економічні зв'язки й транспортні потоки виникають ризики поширення біологічних загроз, здебільшого захворювань бактеріальної етіології. Проблеми бактеріозів та їхнього асоційованого перебігу є актуальними, оскільки на організм тварин постійно впливають чинники, пов'язані з порушеннями технології вирощування, способом утримання, догляду і годівлі тварин, що діють як стреси й призводять до зниження неспецифічної резистентності й розвитку бактеріозів у свиней [1, 2]. Останніми роками бактеріологічний моніторинг підтвердив особливу роль асоційованої мікрофлори в патогенезі бактеріозів тварин, оскільки в дослідженнях виділяють 2–3 і більше патогенів у мікробіоценозах і лише частково — ізоляти одного збудника [3, 4].

Для захисту тварин від захворювань бактеріальної етіології та їхнього ускладненого перебігу виникає нагальна потреба в розробці нових асоційованих вакцин [5, 6]. Перевага цих вакцин полягає в тому, що вони здатні створювати напружений імунітет в організмі щеплених тварин одночасно проти кількох видів патогенних збудників, що сприятиме поліпшенню та стабілізації епізоотичної ситуації щодо ряду інфекційних захворювань, викликаних бактеріальними збудниками [7].

Мета досліджень — розробити ефективну асоційовану вакцину проти найпоширеніших бактеріозів свиней, провести лабораторний контроль якості дослідного препарату та виробничі випробування, визначити економічну ефективність вакцини

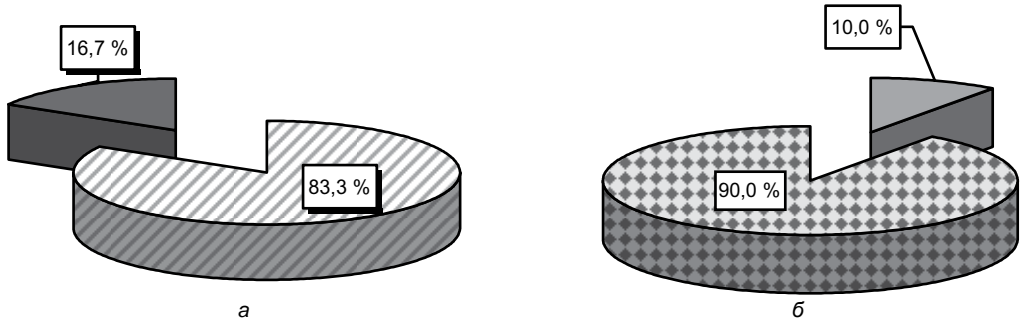


Рис. 1. Збереженість щеплених і нещеплених білих мишей після інфікування культурами збудників: а — щеплені; ▨ — збереженість; ■ — загибель; б — нещеплені; ▨ — збереженість; ■ — загибель

після її застосування в господарствах.

Матеріали та методи. Дослідження проведено на базі лабораторії анаеробних інфекцій Інституту ветеринарної медицини НААН, експериментально-біологічної клініки ДУ Інституту кардіології ім. М.Д. Стражеска, у господарствах: корпорації «Украгротех» Христинівського р-ну Черкаської обл.; ПСП «Рекорд» Корюківського р-ну Чернігівської обл.

Проведено мікроскопічні дослідження, вивчено особливості культурального росту ізолятів збудників бактеріального хвороб, одержаних із біоматеріалу від загинув тварин, досліджено їх цукролітичні, протеолітичні, гемолітичні властивості. Використано серологічний метод дослідження — реакцію аглютинації (РА). Проведено статистичну обробку результатів досліджень [8–10].

Результати досліджень. Експериментальний зразок асоційованої вакцини вельшиколісан проти анаеробної дизентерії молодняка, інфекційної ентеротоксемії, набрякової хвороби, колібактеріозу тварин є поєднанням антигенів відселекціонованих інактивованих епізоотичних штамів *S. perfringens* і *E. coli* в оптимальних співвідношеннях та імуномодулювальних засобів природного походження. Дослідна вакцина пройшла лабораторний контроль якості. Інбредних білих мишей щепили дослідним зразком вакцинного препарату з наступним їхнім зараженням підтитрованими мінімальними летальними дозами збудників *S. perfringens* типів В і С та *E. coli*. Вакцина забезпечила збереженість 83,3% вакцинованих тварин, тоді як 90% невакцинованих білих мишей загинуло. Це свідчить про формування високого рівня специфічного захисту проти збудників зазначених вище бактеріальних інфекцій (рис. 1).

Важливим показником якості вакцини є

біосинтез специфічних антитіл, що характеризує напруженість імунітету. У кролів, імунізованих дослідним зразком вакцини, визначено титри специфічних антитіл до антигенів *S. perfringens* тип В, *S. perfringens* тип С та *E. coli* в сироватці крові тварин. Аналіз результатів обліку РА засвідчив, що упродовж терміну експерименту кількість специфічних антитіл вірогідно зростала, порівняно з попередніми та показниками в кролів контрольної групи. Максимальну концентрацію антитіл, специфічних до збудника *S. perfringens* тип В, спостерігали через 28 діб після повторного щеплення, коли титри специфічних антитіл на 51,8 % ($P < 0,001$) перевищували показники, одержані через 7 діб після першого щеплення тварин (рис. 2).

Про активний імуногенез свідчили показники аглютининів, специфічних до антигенів *E. coli*, оскільки їхній рівень вірогідно зростав на 51,9% ($P < 0,001$), та до антигену *S. perfringens* тип С, рівень якого вірогідно зростав у 30 разів ($P < 0,001$), порівняно

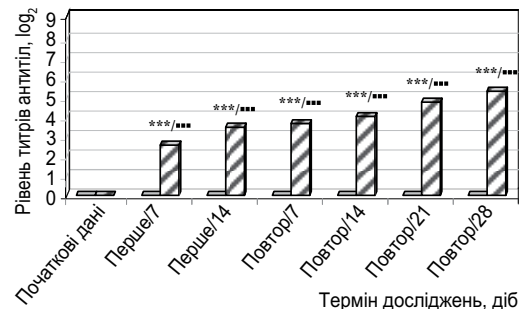


Рис. 2. Динаміка титрів антитіл, специфічних до *S. perfringens* тип В, за застосування вакцини кролям: ***/*** $P < 0,001$ (порівняно з початковими та показниками у тварин контрольної групи); □ — контрольна група; ▨ — дослідна група

Титри специфічних антитіл у свиней за застосування експериментального зразка асоційованої вакцини вельшиколісан ($M \pm m$, \log_2 , $n=100$)

Термін досліджень	Діб після щеплень	Види антигенів	Корпорація «Украгротех»		ПСП «Рекорд»	
			Свиноматки	Поросята (2–4 міс.)	Свиноматки	Поросята (2–4 міс.)
Кількість тварин у групі, гол.			35	25	20	20
Початкові дані		<i>C. perfringens</i> тип В	0,5±0,03	0,4±0,04	0,6±0,05	0,6±0,02
		<i>C. perfringens</i> тип С	0,5±0,03	0,4±0,04	0,5±0,05	0,6±0,08
		<i>E. coli</i>	1,1±0,09	0,8±0,11	1,2±0,10	1,0±0,08
Після щеплень, через діб	14	<i>C. perfringens</i> тип В	4,1±0,16 ***	3,9±0,20 ***	4,4±0,10 ***	4,1±0,13 ***
		<i>C. perfringens</i> тип С	4,4±0,14 ***	4,1±0,17 ***	4,7±0,10 ***	4,1±0,30 ***
		<i>E. coli</i>	5,0±0,16 ***	4,9±0,17 ***	5,4±0,15 ***	4,7±0,30 ***
	14 (28)*	<i>C. perfringens</i> тип В	5,4±0,16 ***	4,9±0,17 ***	6,0±0,15 ***	4,6±0,20 ***
		<i>C. perfringens</i> тип С	5,6±0,11 ***	5,4±0,15 ***	5,9±0,15 ***	5,4±0,20 ***
		<i>E. coli</i>	6,6±0,13 ***	6,3±0,17 ***	7,2±0,20 ***	6,0±0,06 ***
	28 (42)	<i>C. perfringens</i> тип В	6,6±0,13 ***	6,3±0,17 ***	7,3±0,15 ***	5,7±0,20 ***
		<i>C. perfringens</i> тип С	6,8±0,11 ***	6,6±0,11 ***	7,2±0,15 ***	6,3±0,20 ***
		<i>E. coli</i>	8,2±0,15 ***	8,1±0,15 ***	8,6±0,25 ***	7,7±0,20 ***

* Кількість діб після першого щеплення; *** $P < 0,001$ (порівняно з початковими показниками).

з початковими й показниками у тварин контрольної групи через 7 діб після першої імунізації.

Для поглибленого вивчення впливу дослідного вакцинного препарату на організм щеплених свиней і доцільності його застосування в умовах господарств проведено виробничі випробування експериментального зразка асоційованої вакцини вельшиколісан у господарствах: ПСП «Рекорд» (с. В. Слобода Корюківського р-ну Чернігівської обл.) та корпорації «Украгротех» (м. Христинівка Христинівського р-ну Черкаської обл.), де була висока захворюваність тварин. Перебіг хвороби — із симптомокомплексом діареї за ураження поросят різних вікових груп і високим рівнем смертності. Після щеплення свинопоголів'я проведено серологічні дослідження сироваток крові за постановки РА з відповідними антигенами (таблиця). За обліком результатів встановлено, що титри

специфічних аглютининів у свиноматок і поросят починали вірогідно зростати вже через 14 діб після першого щеплення. Із закінченням експерименту у свиноматок, які належали корпорації «Украгротех» і ПСП «Рекорд», титри антитіл, специфічних до *C. perfringens* тип В, були вірогідно вищими у 12,3 ($P < 0,001$) та 13,2 ($P < 0,001$) раза; у поросят 2–4-місячного віку — у 9,5 ($P < 0,001$) і 15,8 ($P < 0,001$) раза відповідно. Вірогідно зростали кількісні показники антитіл, специфічних до *C. perfringens* тип С, оскільки у свиноматок із обох господарств їхні титри зростали більше ніж у 13,6 ($P < 0,001$), а в поросят — у 10,5 ($P < 0,001$) та 16,5 ($P < 0,001$) раза відповідно. Рівень аглютининів, специфічних до *E. coli*, у свиноматок із обох господарств вірогідно зростав більше ніж у 7,2 ($P < 0,001$); у поросят — більше ніж 7,7 ($P < 0,001$) раза, порівняно з початковими показниками.

За аналізом епізоотичних обстежень

та економічних показників, після вакцинації поголів'я в корпорації «Укragenrotek» показники захворюваності поросят у середньому зменшилися на 43%, їхня загибель скоротилася удвічі. Застосування дослідної вакцини сприяло зростанню середньої маси тіла поросят на 21% і загальний економічний ефект від застосування

препарату становив близько 240 тис. грн за рік.

У ПСП «Рекорд» після застосування асоційованої вакцини вельшиколісан показники захворюваності в поросят зменшилися вдвоє, смертності — на 38%; зросли середні прирости маси тіла на 15%, економічний ефект — близько 320 тис. грн за рік.

Висновки

Розроблено асоційовану інактивовану вакцину вельшиколісан проти анаеробної дизентерії, інфекційної ентеротоксемії, набрякової хвороби, колибактеріозу тварин. Проведено лабораторний контроль її якості та встановлено антигенну активність і високу імуногенність препарату, оскільки він забезпечував збереженість 83,3% щеплених білих мишей після їхнього зараження підтитрованими мінімальними летальними дозами (DLM) збудників за загибелі 90% нещепленого поголів'я тварин. Підтверджено імунобіологічну перебудову в організмі щеплених свиноматок і молодняку свиней, оскільки застосування асоційованої вакцини вельшиколісан свиноматкам сприяло зростанню в їхній крові рівня

антитіл, специфічних до *C. perfringens* тип В у 12,3–13,2 ($P<0,001$); до *C. perfringens* тип С — у 13,6 ($P<0,001$) та *E. coli* — у 7,2 рази ($P<0,001$). Після застосування вакцини поросяткам 2–4-місячного віку зросли титри антитіл, специфічних до *C. perfringens* тип В — у 9,5 ($P<0,001$) і 15,8 ($P<0,001$); до *C. perfringens* тип С — у 10,5 ($P<0,001$); до *E. coli* — у 7,7 ($P<0,001$) рази відповідно, що свідчило про формування специфічного захисту в щеплених свиней від збудників перфрингіозів і ешерихій.

Перспективи подальших пошуків спрямовані на застосування наночастинок металів у біотехнології виготовлення асоційованих вакцин з метою підвищення їхньої ефективності.

Бібліографія

1. Методи дослідження природної резистентності свиней: метод. реком./А.М. Нікітенко, В.П. Лясота, В.В. Малина та ін. — Львів, 2004. — С. 55–56; 61–63.
2. Етіопатогенетичні особливості формування мікробіоценозів за некробактеріозу, ускладненого асоціативною мікрофлорою/В.П. Риженко, Г.Ф. Риженко, О.І. Горбатюк та ін.//Ветеринарна біотехнологія. — 2013. — № 22. — С. 456–467.
3. Paul J.H. Cloning and molecular characterization of the beta toxin (phospholipase C) gene of *Clostridium haemolyticum*/J.H. Paul, J.Y. Teresa, R.F. Rosenbusch//Veterinary Microbiology and Preventive Medicine, College of Veterinary Medicine. — Iowa State University. — Ames, IA 50010, USA. — 2004. — V. 10, Issue 4. — P. 243–254.
4. Erythrocyte lipid peroxides and blood zinc and copper concentrations in acute undifferentiated diarrhea in calves/R. Ranjan, R. Naresh, C. Patra, D. Swarup//Veterinary research communications: Dordrecht. — 2006. — V. 20, № 3. — P. 249–254.
5. Визначення оптимальних співвідношень антигенів при конструюванні асоційованих вакцин/В.П. Риженко, Г.Ф. Риженко, О.І. Горбатюк та ін.//

Ветеринарна біотехнологія. — 2013. — № 23. — С. 231–234.

6. Маслянюк Р.П. Роль умовно-патогенної мікрофлори в інфекційній патології кишечника/Р.П. Маслянюк, Л.Я. Божик//Наук. вісн. Львівського нац. ун-ту вет. медицини та біотехнологій ім. Ґжицького. — 2011. — Т. 13, № 2(1). — С. 185–191.

7. Морару Г.С. Щоб одержати здорових поросят/Г.С. Морару//Ветеринарна медицина України. — 2004. — № 2. — С. 10.

8. Імунологічні методи досліджень у лабораторіях ветеринарної медицини: методичні рекомендації/В.М. Івченко, П.І. Сидорчук, М.С. Павленко та ін. — Біла Церква, 1997. — С. 19–20.

9. Загальні методи мікробіологічних досліджень у лабораторіях ветеринарної медицини/В.М. Івченко, Г.М. Денисенко, В.В. Шарандак та ін. — Біла Церква, 2003. — 64 с.

10. Ойвин И. А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований/И.А. Ойвин//Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 1960. — № 4. — С. 396–401.

Надійшла 5.02.2016.