

УДК: 636:576.8.09

В. П. РИЖЕНКО, доктор ветеринарних наук, професор

Г. Ф. РИЖЕНКО, кандидат біологічних наук

О. І. ГОРБАТЮК, кандидат ветеринарних наук

В. О. АНДРІЯЩУК, кандидати ветеринарних наук

О. М. ЖОВНІР, О. В. РУДОЙ, Т. М. УХОВСЬКА

Інститут ветеринарної медицини НААН, м. Київ

ОБҐРУНТУВАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЇ СТВОРЕННЯ АСОЦІЙОВАНИХ ВАКЦИН

У статті викладені результати власних досліджень та аналіз літературних джерел щодо поліетіологічного характеру інфекційної патології та біоценотичних взаємовідносин мікроорганізмів. Автори стверджують перспективність напрямку розроблення біотехнології виготовлення асоційованих вакцин.

Ключові слова: асоціації мікроорганізмів, мікробіоценоз, антагонізм, синергізм, вакцини.

Формування мікробного біоценозу регулюється складною системою між-мікробних взаємовідносин, їх взаємодією із системами макроорганізму та умовами зовнішнього середовища, які складаються у процесі життя, утворюючи динамічну екосистему.

Нормальна мікрофлора відіграє важливу роль у підтриманні та забезпеченні природної резистентності організму тварин. Останніми роками, за результатами досліджень спектру видового складу мікробіоценозів, значна кількість яких проведена у сфері гуманної медицини, доведена важлива роль асоціативної мікрофлори у патогенезі ряду інфекційних захворювань [1, 2, 3].

Тому, нині актуальними питаннями та предметом науково-практичних досліджень є вивчення біотичних властивостей у співнотах мікроорганізмів, якісний та кількісний склад мікробіоценозів, співвідношення видів бактерій в асоціаціях мікроорганізмів.

Слід зазначити, що вивчення біоценотичних відносин популяцій мікроорганізмів та впливу їх асоціацій на організм знаходились у центрі уваги багатьох вчених минулого століття (Л.А. Зільбер, Н.Ф. Гамалія, Е.В. Глотова, Н.С. Гродко, З.В. Єрмольєва, Вейнберг, Гінзбург, Лейзерович, Н.Л. Грачева, Й.С. Доценко, Х.Х. Абдуллін, В.П. Кивалкіна, В.Д. Тимаков, А.А. Воробьев, М.В. Земской та ін.) [3, 4].

Установлено, що у виникненні інфекційної патології тварин і людини приймають участь бактеріальні, вірусні, вірусно-бактеріальні та ін. асоціації.

Враховуючи етіологічну структуру інфекційних захворювань у багатьох країнах світу створені асоційовані вакцини, які знайшли застосування і в Україні.

Колективом науковців Інституту ветеринарної медицини протягом останніх 15 років розроблено і успішно апробовано в умовах господарств понад 20 асоційованих інактивованих вакцин для профілактики змішаних інфекцій. Працюючи над створенням мультикомпонентних вакцин ми вимушені вивчати взаємовідносини асоціантів, режими культивування кожного збудника із асоціантів, режими інактивування та

сорбції антигенів, відпрацювати оптимальне співвідношення антигенів, вивчати особливості імуногенезу за застосування складних вакцин та ін. [5, 6, 7].

Мета. Поглиблене вивчення біоценотичних взаємовідносин мікроорганізмів, особливості продукування факторів патогенності асоціаціями патогенів та їх вплив на макроорганізм.

Матеріали і методи досліджень. Робота виконувалась у лабораторії з науково-дослідним референс-центром з вивчення анаеробних інфекцій ІВМ НААН з використанням сучасного обладнання та приладів повірених в установленому порядку.

У досліджах використано понад 1000 ізолятів мікроорганізмів, виділених з патологічного та біологічного матеріалу, що надійшов з господарств різних регіонів України. Понад 800 культур патогенів досліджені на чутливість до антибактеріальних препаратів. Вивчали як чисті культури, так і їх асоціації. Властивості асоційованих культур вивчали *in vitro* і на лабораторних тваринах [7].

Результати власних досліджень та їх обговорення.

Здійснені нами чисельні бактеріологічні дослідження біологічного та патологічного матеріалу від хворих та загиблих тварин за останні 15 років свідчать, що лише у поодиноких випадках можливо ізолювати чисті культури одного збудника захворювання, а переважно виділяли асоціації 2-8 патогенів. Виділені нами ізоляти вивчені на чутливість до антибактеріальних препаратів. Одержані результати досліджень свідчать про переважну резистентність збудників до значної кількості АБП, внаслідок чого надзвичайно складно одержати високу терапевтичну ефективність від застосування окремих препаратів за асоційованих інфекцій. Отже виникає потреба розробки асоційованих вакцин. Але, для створення асоційованих препаратів необхідно володіти знаннями щодо взаємовідносин членів асоціації. Ці дослідження складні, коштовні і небезпечні для виконавців. Вирішенню цих питань присвячений комплекс наших досліджень, у результаті чого створено понад 20 зразків інактивованих асоційованих вакцин, котрі знайшли широке застосування в Україні [5 – 6].

Зустрічається широка різновидність асоціацій мікроорганізмів, до складу яких входять представники анаеробів і аеробів, вірусів, грибів, плісені та ін. Воротами інфекцій для них можуть бути і спільними і відрізнятися. Так, для анаеробних мікроорганізмів основними воротами інфекції є ротова порожнина, глотка, ранові ушкодження слизових оболонок та шкіри [8,9].

Подальше розмноження та шкідлива дія асоціативних мікроорганізмів залежить від біоценотичних взаємовідносин представників асоціації: одні відіграють роль активаторів, а інші – антагоністів. Так, для *Clostridium perfringens* роль активаторів можуть виконувати *Cl. sporogenes*, *B. subtilis*, *Cl. oedematiens*, бактерії роду *Proteus*, коки, сарцини, гнилісна мікрофлора [10,11,12].

За культивування змішаних культур *Cl. perfringens*, *B. subtilis* і сарцини значно збільшується накопичення бакмаси *Cl. perfringens*, токсину, зростають патогенність, некротичні і гемолітичні властивості. Ряд штамів стрептококів мають таку ж дію щодо *Cl. perfringens*.

У той же час, одночасне культивування на *Cl. perfringens* і *E. coli* супроводжується руйнуванням некротоксинів, а ряд штамів *E. coli* їх розрушують повністю. У змішаних культурах *Cl. perfringens*, *Cl. oedematiens* і *E. coli* патогенні

властивості *Cl. perfringens* пригнічуються. Антагоністом для *Cl. perfringens* є *B. mesentericus* [7,13].

Стимулюють токсиноутворення *Cl. botulinum* такі мікроорганізми як сарцини, сінна паличка. Більш тяжко перебігає патологічний процес викликаний *Cl. histolyticum*, ускладнений *Bac. intermedius*. Коли до патологічного процесу, викликаного *Cl. septicum*, приєднується *Bac. prodigiosum*, останній перебігає надзвичайно бурно. У той же час *Cl. sporogenes* є антагоністом для *Cl. botulinum*, *Cl. septicum* і *Cl. oedematiens*[14,15].

Значно зменшується утворення ботулотоксину під впливом продуктів метаболізму *E. coli*, *P. vulgaris*, *Cl. sporogenes*, молочно-кислих мікроорганізмів. Для *E. coli* активують патологічний процес *Cl. sporogenes* і бактерії роду *Proteus*. *Cl. septicum* і *Cl. fallax* значно підсилюють свою вірулентність, а із тканин загинувших тварин зникають усі інші мікроорганізми. Для *Fusobacterium necrophorum* антагоністами є плісняві гриби.

Значно підсилюються патогенні властивості *Cl. chauvoei* за додавання до культури бактерії роду *Proteus* або культури стафілококів. Інтенсивно перебігаючий емкар викликають асоціації *Cl. chauvoei* зі стрептококами, сінною паличкою, сарцинами, білим та золотистим стафілококами, тетракоками, гноєрідним стрептококом. С. Д. Панасюк звертає увагу на поширені асоціації *Cl. perfringens*, *F. necrophorum*, *B. nodosus*, *A. piogenes*, *S. aureus* за інфекційної патології кінцівок у жуйних [16]. Відомі випадки тяжкого перебігу бацилярної гемоглобінурії великої рогатої худоби за асоціації *Cl. haemolyticum* з *Cl. perfringens*, *F. necrophorum* (В. П. Риженко 1992, 2007) [4,5,6].

Слід зазначити, що мікроорганізми у змішаних культурах нерідко мають інші культуральні властивості. Користуючись змішаними культурами є можливість зберігати або підтверджувати вірулентні і токсичні властивості збудників хвороб. За культивування двох мікроорганізмів кожний з них може набути серологічні властивості іншого. Як правило, у змішаних культурах анаеробні мікроорганізми накопичуються більш інтенсивно [17, 18].

Заслуговує на увагу і таке явище як самоочищення анаеробних мікроорганізмів за вирощування у змішаних культурах тривалий час. Так, у присутності сарцин збудники *Cl. perfringens* і *Cl. buturicum* добре ростуть ваеробних умовах, але після 6 – 8 денного культивування сарцини із змішаної культури зникають, а залишаються чисті культури *Cl. perfringens*[19].

За результатами вивчення механізму впливу на організм окремих факторів патогенних мікроорганізмів та їх асоціацій, а також клінічних спостережень за хворими та дослідними тваринами, з проведенням гематологічних, біохімічних та імунологічних досліджень, нами сформована схема розвитку патологічного процесу за змішаних інфекціях (рис. 1)

Отже складність розвитку інфекційного процесу, різносторонність його прояву, створює передумови для обґрунтування розробки такої технології виготовлення асоційованих вакцин, яка б забезпечила вплив біопрепарату на діяльність усіх органів і систем макроорганізму. У результаті створені нами асоційовані вакцини містять антигени які забезпечують синтез антитоксинів, антибактеріальних антитіл, а також імуномодулюючі засоби природного походження. Такий склад вакцин забезпечує можливість їх використання, як з профілактичною, так і лікувальною метою.



Рис. 1. Особливості патогенезу за змішаних інфекцій, викликаних анаеробними та аеробними мікроорганізмами.

До таких ВІЗ належать асоційовані вакцини Вельшіколісан, Вельшісальм, Вельшіколісальм, Сердосан, Некросан, Некросальм, Некроколісальм, Пневмомас-тисан, Актиноколісан, Фузоактиносан та ряд інших.

Висновки:

1. Установлено, що за бактеріологічних досліджень патологічного та біологічного матеріалу від тварин хворих на некробактеріоз, актинобацильоз, анаеробну ентеротоксемію виділяються різні асоціації мікроорганізмів навіть від декількох тварин з одного й того ж господарства. Цим пояснюється висока ефективність аутовакцин взагалі і їх недостатня ефективність щодо окремих тварин чи груп тварин.

2. Визначення найбільш поширених асоціацій патогенів у окремих регіонах держави є передумовою для створенням нових варіантів асоційованих вакцин з урахуванням епізоотичної ситуації.

3. 15 річний досвід вивчення етіологічної структури бактеріозів великої рогатої худоби, овець, свиней свідчить, що створення асоційованих вакцин є найперспективнішим напрямком підвищення рівня специфічного захисту тварин та санітарної безпеки продукції тваринництва.

Перспективи подальших досліджень. Є необхідність вивчення різних асоціацій патогенів на молекулярно-генетичному рівні з метою в'яснення механізму їх взаємодії.

Список використаної літератури.

1. Воробьев А.А. Бактерии нормальной микрофлоры: биологические свойства и защитные функции / А.А. Воробьев, Е.А. Лыкова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – № 6. – 1999. – С. 102 – 105.
2. Ардатская М.Д. Микробиоценоз кишечника и его роль в развитии и поддержании заболеваний желудочно-кишечного тракта / М.Д. Ардатская // Гастроэнтерология. – № 6 / 1. – 2009. – С. 51 – 53.
3. Онищенко Г.Г. Иммунологические препараты и перспективы их применения в инфектологии. Раздел 1. Значение симбиотической микрофлоры для здоровья человека / Г.Г. Онищенко, В.А. Алешкин. – М.: МЗРФ, 2002. – С. 11 – 106.
4. Риженко В.П. Специфічна профілактика бактеріальних факторних хвороб свиней / В.П. Риженко // Ветеринарна біотехнологія. – Бюл. №15. – 2009. – 452с. – Бібліограф.: С.324-335
5. Риженко В.П. Теоретичне та експериментальне обґрунтування розробки нових вакцин/ В.П. Риженко, Г.Ф. Риженко, О.І. Горбатюк та ін. // Ветеринарна біотехнологія. – Бюл. №13(1) 2008. – С.52. – Бібліограф.: С.51-52.
6. Рыженко В.П. Комплексная вакцинация в интенсивном животноводстве и ее экономическая эффективность: Монография. – Кировоград, 1984. – С.146-163.
7. Горбатюк О.І. Методичні рекомендації з вивчення біоценотичних зв'язків анаеробних та аеробних мікроорганізмів / Горбатюк О.І., Риженко Г.Ф., Риженко В.П. та ін. //К.: ЦП „Компрінт” 2013. – 37с.
8. Павлова Н.В. Нормальная микрофлора пищеварительного тракта птиц – фактор противостояния вредным воздействиям / Н.В. Павлова, Ф.С. Киржаев, Л. Лапинская // Ветеринария с.-х. животных. – № 5. – 2007. – С. 5 – 8.
9. Ярчук Б. Еволюція інфекційних хвороб. Еволюційні механізми збереження у бактерій / Б. Ярчук, Л. Корнієнко, Л. Корнієнко та ін. // Вет. мед. України. – № 2. – 2001. – С. 18 – 21.
10. Кухтин М.Д. Мікробні біоплівки – явище існування та захисту мікроорганізмів / М.Д. Кухтин //Вет. мед. України. – 2009. – № 10. – С. 20 – 21.
11. Коваль Г.Д. Антимікробна властивість бактисубтиліна / Г.Д. Коваль, І.Й. Сидорчук // Буковинський медичний вісник. – 2000. – Т. 4. – № 3. – С. 198 – 205.
12. Прискока В.А. Классификация смешанных инфекций и связанных с ними процессов / В.А. Прискока // Сельскохозяйственная биология. – 1992. – № 4. – С. 142 – 147.
13. Сидорчук А.А. Роль ассоциаций анаэробных микроорганизмов в патологии сельскохозяйственных животных / А.А. Сидорчук, С.Д. Панасюк // Мат. Пленума секции паразитологии АН СССР. – Витебск, 1988. – С. 21 – 24.
14. Панасюк Д.И. Проблемы симбиотологии / Д.И. Панасюк, С.Д. Панасюк, Т.П. Максина и др.– Нальчик: изд. Кабардино-Балкарской ГСХА, 1997. – 304 с. – Библиограф.: С. 137 – 152.
15. Beger H.G. Bacterial contamination of pancreatic necrosis / H.G. Beger, R. Rilmer, M. Buchler // Gastroenterology/ – 1986. – N 91 (2). – P. 433 – 438.
16. Панасюк С.Д. Значение ассоциаций микроорганизмов в этиологии и профилактике инфекционных болезней конечностей крупного и мелкого рогатого скота (некробактериоз, копытная гниль): Автореф. дис.по специальности 16.00.03. – Москва, 2007. – 51 с.

17. Улько Л.Г. Асоційовані бактеріози кінцівок у корів(етіологія, удосконалення профілактики та засобів лікування) Автореф. Дис. за спеціальністю 16.00.03. – Харків, 2013. – 41 с.

18. Риженко В.П. Біотичні відносини *Fusobacterium necrophorum* із асоціаціями аеробних мікроорганізмів / В.П. Риженко, Г.Ф. Риженко, О.І. Горбатюк та ін. // Ветеринарна біотехнологія. – Бюлетень №14. – 2009. – С. 278-285.

19. Семенов А.В. Характеристика антагонистической активности бактерий при межмикробных взаимодействиях: Автореф. дис. канд. биол. наук по специальности 03.00.07 – микробиология. – Оренбург, 2009. – 23с.

ОБОСНОВАНИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ СОЗДАНИЯ АССОЦИИРОВАННЫХ ВАКЦИН /В. П. Рыженко, Г. Ф. Рыженко, О. И. Горбатюк, В. А. Андрияшук, А. В. Рудой, А. М. Жовнир, Т. Н. Уховская

В статье изложены результаты собственных исследований и анализ литературных источников, по касающихся полиэтиологического характера инфекционной патологии и биоценологических взаимоотношений микроорганизмов. Авторы подтверждают перспективность направления разработки биотехнологии изготовления ассоциированных вакцин.

Ключевые слова: ассоциации микроорганизмов, микробиоценоз, антагонизм, синергизм, вакцины.

SUBSTANTIATION OF BIOTECHNOLOGY THE CREATION ASSOCIATED VACCINES /V.P. Rizhenko, G.F. Rizhenko, O.I. Gorbatyuk, V.A. Andriyashchuk, A.V. Rudoy, A.M. Zhovnir, T. N. Uchovska

This paper presents the results of our own research and analysis of the literature on polietiologic nature of infectious diseases and biocenotical relationships microorganisms. The authors argue promising direction of development of biotechnology manufacturing of associated vaccines.

Keywords: association of microorganisms microbiocenosis, antagonism, synergism, vaccines.

Рецензент – кандидат ветеринарных наук **В. В. Уховський**

Рукопис надійшов 27. 02. 2014 року.