

УДК:619:615.371

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

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

Н. А. ТЕПЛЮК, П. П. КАМЕНЧУК

Інститут ветеринарної медицини НААН, м. Київ

Б. М. ТЕРЕШКО, кандидат с.-г. наук

НВП «Облдержстандартметрологія» (м. Біла Церква)

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ АСОЦІЙОВАНОЇ ВАКЦИНИ «ВЕЛЬШИКОЛІСАН»

*У статті викладені результати імунологічних досліджень сироваток крові кролів, щеплених моновакцинами «Колісан», «Вельшисан» та асоційованою вакциною «Вельшиколісан». За аналізом показників кількісного вмісту специфічних до *E. coli* Cl. *perfringens* тип А аглютининів доведена відсутність конкуренції антигенів збудників в організмі тварин, щеплених асоційованою вакциною «Вельшиколісан» проти анаеробної дезінтерії молодняка, інфекційної ентеротоксемії, набрякової хвороби, колібактеріозу тварин.*

Ключові слова: асоціація мікроорганізмів, мікроби-асоціанти, асоційована вакцина, специфічні аглютиніни, титри антитіл, конкуренція антигенів.

Однією із проблем сучасного тваринництва є зниження рівня природної резистентності у тварин, викликаній різними етіологічними факторами. Проблема поглиблюється тим, що на фоні зниження природного захисту організму у тварин виникає ряд захворювань, спровокованих асоціаціями мікроорганізмів, які створюють ризики щодо перезараження поголів'я худоби, ускладнюють епізоотичну та негативно впливають на епідеміологічну ситуацію [1 – 3].

Аналіз літературних джерел показав, що на даний час асоційовані інфекції складають більшу частину серед інфекційних хвороб [4, 5].

Останнім часом дані наукових досліджень стосовно вивчення доступності макроорганізму для проникнення різних видів мікроорганізмів, встановлено, що саме мікроорганізми, які потрапивши в організм тварини не завжди зумовлюють виникнення захворювання, спроможні вступати до паразитоценозу та викликати розвиток ускладнених асоційованих бактеріозів [2, 6]. Вчені наголошують, що нині серед інфекційних захворювань від 30,0 до 70,0 % мають ускладнений асоціативний перебіг [1, 2, 6]. Сучасні експериментальні дослідження допомогли науковцям з'ясувати роль мікробів-асоціантів в розвитку захворювань та встановити, що асоційовані патогени значно агресивніші, адже проявляють більш виражену токсичну, некротичну і інші види руйнівної дії на клітини, тканини та органи. Для асоційованої інфекції характерним є атиповий тяжкий перебіг захворювання, недостатня ефективність за застосування антибіотикотерапії та частий перехід хвороби в хронічну форму або бактеріоносійство. Це породжує нову проблему для ветеринарної і гуманної медицини – зміну самої етіологічної структури інфекційних захворювань.

Нині вітчизняні та зарубіжні вчені схиляються до думки, що в сучасних умовах господарювання для тваринницьких господарств, незалежно від форми власності, вигіднішою, економічною та ефективнішою, за порівняння із лікувальними засобами, є специфічна профілактика захворювань, викликаних асоційованою інфекцією, в поєднанні із комплексною системою заходів організаційного, господарського, технологічного і зооветеринарного характеру, направлених на створення здорового продуктивного стада худоби [7, 8].

Метою роботи було проведення порівняльного аналізу показників імунологічної перебудови і оцінки конкуренції антигенів в організмі за рівнем специфічних аглютининів в сироватці крові дворазово щеплених кролів моновакцинами «Колісан», «Вельшисан» та асоційованою вакциною «Вельшиколісан».

Матеріал і методи досліджень. Робота виконана на базі лабораторії анаеробних інфекцій ІВМ НААН України (м. Київ).

З метою дослідження впливу сконструйованої асоційованої вакцини «Вельшиколісан» на імунологічну перебудову і вивчення конкуренції антигенів в організмі щеплених тварин, було сформовано три групи кролів (1 дослідну і 2 контрольних) по 3 гол. у кожній, живою масою $2,5 \pm 0,6$ кг. Послідовність постановки досліду показано в таблиці 2. Експеримент розраховано на 2 періоди – підготовчий та обліковий. Всі тварини перебували в однакових умовах годівлі та утримання (згідно існуючих норм). У підготовчий період тривалістю 14 діб, проведено візуальні спостереження за загальним станом організму кролів, поведінкою тварин, їх апетитом. За підготовчий період не виявлено будь-яких фізіологічних змін у тварин обох груп і всі кролі було допущено до проведення експерименту. У обліковий період тваринам дослідної групи проведено щеплення експериментальним зразком вакцини «Вельшиколісан» серія № 2 в дозі $2,0 \text{ см}^3$ підшкірно, дворазово з інтервалом 14 діб. Тварин контрольної групи № 1 були вакциновані моновакциною «Колісан» серія № 10, контрольної групи № 2 – відповідно моновакциною «Вельшисан» серія № 1 в таких же дозах. Всі вакцини власного виробництва.

Таблиця 1

Схема постановки експерименту за принципом пар-аналогів

Номер групи	Призначення групи	Підготовчий період	Облікові періоди	
			перший підперіод	другий підперіод
Контрольна № 1	кролі контрольної групи	ОК*	ОК+ перше щеплення моновакциною «Колісан»	ОК+ повторне щеплення моновакциною «Колісан»
контрольна № 2	кролі контрольної групи	ОК	ОК+ перше щеплення моновакциною «Вельшисан»	ОК+ повторне щеплення моновакциною «Вельшисан»
Дослідна група № 1	кролі дослідної групи	ОК	ОК + перше щеплення асоційованою вакциною «Вельшиколісан»	ОК + повторне щеплення вакциною «Вельшиколісан»
Тривалість періоду		14 діб	14 діб	28 діб

Примітка: ОК* – основний комплекс факторів годівлі та утримання кролів

Визначення титрів антитіл, специфічних до *E. coli* та *Cl. perfringens* проводили класичним методом постановки РА за описом В.М. Івченка (1997) [9]. Для постановки РА нами виготовлено антигени збудників *E. coli* штам «Чернігів – 44», *Cl. perfringens* тип А за загальноприйнятими методиками. Культури збудників одержані із музею штамів мікроорганізмів лабораторії анаеробних інфекцій ІВМ НААН України. Згадані мікроорганізми задепоновані як вакцинні штами в ДНДШМ (м. Київ).

Статистичну обробку одержаних результатів досліджень проводили із використанням програми «Excel-97» для Windows. Критерій вірогідності визначали по Ст'юденту з урахуванням порогу вірогідності [10].

Відбір зразків крові для отримання сироватки а також зразків зі стабілізуючою речовиною (гепарин з розрахунку кінцевої його концентрації 25–30 ОД/см³ проводили на початку експерименту, через 7, 14 після першого та 7, 14, 21 і 28 діб після повторного щеплення.

Результати власних досліджень. З метою вивчення функціональної активності плазматичних клітин, як показника біосинтезу специфічних антитіл, оцінки напруженості імунітету та визначення стану конкуренції антигенів нами вивчені титри специфічних антитіл до *Cl. perfringens* тип А та *E. coli* штам «Чернігів – 44» в сироватці крові щеплених кролів контрольних та дослідної груп. Результати серологічних досліджень сироваток крові тварин за постановці РА із антигенами *Cl. perfringens* тип А та *E. coli* штам «Чернігів – 44» представлені в таблиці 2.

Таблиця 2

Рівень специфічних антитіл в сироватці крові кролів, щеплених моновакцинами «Колісан», «Вельшисан» та асоційованою вакциною «Вельшиколісан»; $M \pm m$, \log_2 , $n_{1,2,3}=3$

Призначення групи тварин	Застосована вакцина	Вид антигену	Рівень титрів антитіл			
			початкові дані	Після щеплення, через діб		
				першого	повторного	
				14	14 (28)	28 (42)
Дослідна № 1	«Вельши-колісан»	<i>Cl. perfringens</i> тип А	–	3,7 \pm 0,30 * /	4,7 \pm 0,33 * /	5,7 \pm 0,33 * /
		<i>E. coli</i> штам «Чернігів – 44»	–	3,3 \pm 0,33	3,3 \pm 0,01 * /	5,0 \pm 0,01
Контрольна № 1	«Вельши-сан»	<i>Cl. perfringens</i> тип А	0,13 \pm 0,01	3,0 \pm 0,01	4,0 \pm 0,33	5,0 \pm 0,01
Контрольна № 2	«Колісан»	<i>E. coli</i> штам «Чернігів – 44»	–	3,0 \pm 0,01	3,0 \pm 0,01	5,0 \pm 0,50

Примітка * – $p < 0,05$ порівняно із показниками тварин контрольної групи

Аналіз результатів обліку РА із сироватками крові кролів, щеплених асоційованою вакциною «Вельшиколісан» та моновакцинами «Вельшисан», «Колісан» показав, що за застосування асоційованої вакцини синтез специфічних антитіл до антигенів *Cl. perfringens* тип А та *E. coli* штам «Чернів – 44» у тварин відбувався значно швидше про що свідчив кількісний вміст специфічних аглютининів. Уже через 7 дб після першого щеплення титри специфічних до *Cl. perfringens* тип А антитіл вірогідно зростали на 18,9% ($p < 0,05$), *E. coli* штам «Чернів – 44» – на 9,1 % порівняно із аналогічними показниками у кролів контрольних груп за застосування моновакцин «Вельшисан» і «Колісан» відповідно (рис.1).

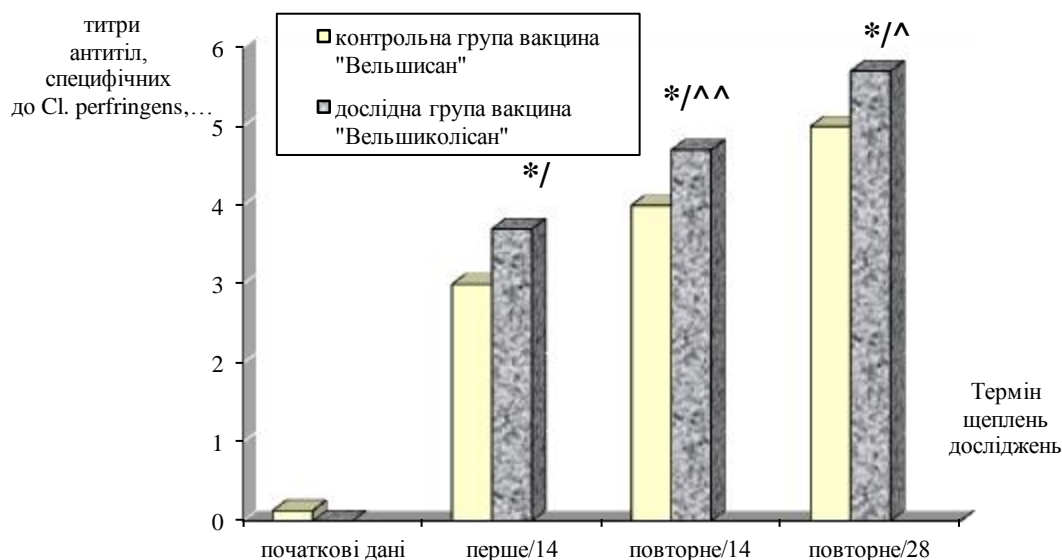


Рис. 2 Рівень титрів специфічних аглютининів *Cl. perfringens* тип А у кролів, щеплених моно- та асоційованою вакцинами

Примітка. * – $p < 0,05$ порівняно із показниками тварин контрольної групи, ^ – $p < 0,05$;
^^ – $p < 0,01$ порівняно із попередніми показниками.

Більше того, за закінчення дослідів у кролів, щеплених асоційованою вакциною «Вельшиколісан» вміст антитіл специфічних до *Cl. perfringens* тип А вірогідно зростає на 21,3 % проти попередніх даних та на 12,3 % порівняно із аналогічними показниками у кролів контрольної групи, щеплених моновакциною «Вельшисан» ($p < 0,05$).

Синтез специфічних колібактеріозних аглютининів був відмічений через 14 дб за першого щеплення асоційованою вакциною (рис.2). Упродовж терміну експерименту посилювалася активність синтезу специфічних до *E. coli* антитіл та за закінчення експерименту їх рівень зростає до показника $5,0 \pm 0,01 \log_2$, щона 17,5% вірогідно перевищувало попередні дані ($p < 0,05$).

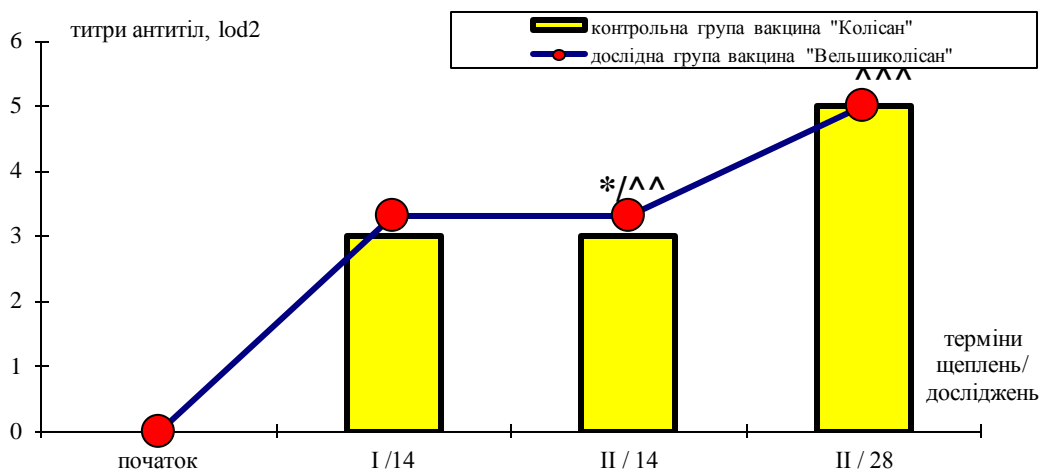


Рис. 2. Специфічні до *E. coli* аглютиніни у кролів за щеплення моно- та асоційованою вакцинами

Примітка * – $p < 0,05$ порівняно із показниками тварин контрольної групи, ^ – $p < 0,01$; ^^ – $p < 0,001$ порівняно із попередніми показниками.

Через 6 тижнів від початку вакцинації кролів обох груп порівняльний аналіз результатів досліджень кількісного вмісту специфічних до *E. coli* аглютининів у тварин дослідної і контрольної груп показав однакові результати, чим засвідчена відсутність конкуренції антигенів збудника в організмі тварин, незалежно від виду застосованих для щеплення вакцин – моно- чи асоційованої. Одержані дані засвідчують доцільність застосування саме асоційованої вакцини «Вельшиколісан», яка забезпечує одночасний імунний захист тварин проти анаеробної дезінтерії, інфекційної ентеротоксемії, набрякової хвороби, колібактеріозу тварин.

Висновки. 1. Встановлено, що застосування кролям асоційованої вакцини «Вельшиколісан» сприяло вірогідному зростанню кількісного вмісту специфічних до *Cl. perfringens* тип А антитіл на рівні, вищому проти показників у кролів, щеплених моновакциною «Вельшисан» на 12,3 % та засвідчувало відсутність конкуренції антигену збудника в організмі вакцинованих тварин ($p < 0,05$).

2. Виявлено, що рівень специфічних до *E. coli* аглютининів в сироватці крові кролів, щеплених асоційованою вакциною «Вельшиколісан», зростав більш активно за порівняння із показниками контрольної групи та вірогідно в 1,5 рази зростав проти попередніх даних ($p < 0,001$).

3. Встановлено, що через 6 тижнів після вакцинації кролів, щеплених моно- та асоційованою вакциною, показники кількісного вмісту специфічних до *E. coli* аглютининів були однаковими, що засвідчувало відсутність конкуренції антигенів збудника в організмі вакцинованих тварин.

4. Підтверджена доцільність застосування асоційованої вакцини «Вельшиколісан», яка забезпечує одночасний імунний захист тварин проти анаеробної дезінтерії, інфекційної ентеротоксемії, набрякової хвороби, колібактеріозу тварин.

Перспективи подальших досліджень полягають у поглибленому вивченні впливу асоційованої вакцини на організм великої і дрібної рогатої худоби та свиней у виробничих умовах.

Список використаної літератури:

1. С. Д. Панасюк 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.
2. Л. Г. Улько Асоційовані бактеріози кінцівок у корів (етіологія, удосконалення профілактики та засобів лікування) Автореф. за спеціальністю 16.00.03. – Харків, 2013. – 41 с.
3. Л. В. Кириллов Предупреждение инфекционных заболеваний анаэробной этиологии // Ветеринария.– № 1.– 2001. – С. 16 – 19;
4. А. С. Пшенисова Характеристика иммунного статуса при эшерихиозной инфекции у детей / А. С. Пшенисова, Р. А. Дарджания // Мат. Второго конгресса педиатров – инфекционистов России «Актуальные вопросы инфекционной патологии у детей».– М., 2003. – С. 161 – 162.
5. А. В. Семенов Характеристика антагонистической активности бактерий при межмикробных взаимодействиях: Автореф. дис....канд. биол. наук по специальности 03.00.07 – микробиология. – Оренбург, 2009. – 23 с.
6. В.О. Ушкалов, Н.М. Коваленко, О.П. Кисляк., М.Є. Романько. Стан показників природної резистентності та оксидантно-антиоксидантної системи крові великої рогатої худоби за умов застосування вакцини «Некросан» // Ветеринарна біотехнологія.– № 13 (2).– 2008.– С. 270 – 278.
7. В. П. Риженко Стан клітинної та гуморальної ланок імунітету у овець, щеплених вакциною «Некросан» / В. П. Риженко, Г. Ф. Риженко, О. І. Горбатюк, В. О. Андріяшук та ін. // Ветеринарна медицина. – 95. – Харків, 2011. – 452 с. – Бібліограф.: С. 300 – 304.
8. В. П. Риженко Розробка та удосконалення засобів профілактики анаеробних інфекцій / В. П. Риженко, Г. Ф. Риженко, О. І. Горбатюк, С. А. Дементьєва, В. В. Риженко, В. О. Андріяшук та ін. // X Міжнародна конференція науково-педагогічних працівників, наукових співробітників та аспірантів 16 – 17 березня 2011 р. «Ветеринарна медицина та якість і безпека продукції тваринництва», (тези доповідей). – Київ, 2011. – С. 254 – 255.
9. 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.
11. И. А. Ойвин Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований / И. А. Ойвин // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1960. – № 4. – С. 396 – 401.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ АССОЦИИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ «ВЕЛЬШИКОЛИ-САН» /В. П. Рыженко, Г. Ф. Рыженко, О. И. Горбатюк, В. А. Андріяшук, Т. Н. Уховская, А. М. Жовнир, А. В. Рудой, С. Н. Тютюн, Н. А. Теплюк, П. П. Каменчук, Б. Н. Терешко

В статье изложены результаты иммунологических исследований сывороток крови кролей, привитых моновакцинами «Колисан», «Вельшисан» и ассоци-

ированной вакциной «Вельшиколисан». Согласно анализу показателей количественного содержания специфических к *E. coli* i *Cl. perfringens* тип A агглютининов доказано отсутствие конкуренции антигенов возбудителей в организме животных, привитых ассоциированной вакциной «Вельшиколисан» против анаэробной дизинтерии, инфекционной энтеротоксемии, отежной болезни, колибактериоза животных.

Ключевые слова: ассоциация микроорганизмов, микробы-ассоцианты, ассоциированная вакцина, специфические агглютинины, титры антител, конкуренция антигенов.

EXPERIMENTAL APPLICATION EFFECTIVENESS ASSOCIATED VACCINE "VELSHIKOLISAN" / V. P. Rizhenko, G. F. Rizhenko, O. I. Gorba-tyuk, V. A. Andriyaschuk, T. N. Ukhovska, A. M. Zhovnir, A. V. Rudoi, S. N. Tiutun, N. A. Teplyuk, P. P. Kamenchuk, B. N. Tereshko

*The article presents the results of immunological studies serum blood of rabbits immunized monovalent "Kolisan", "Velshisan" and associated vaccine "Velshikolisan". According to the analysis of indicators quantitative content specific to *E. coli* i *Cl. perfringens* type A agglutinins proven lack of competition antigens of pathogens in animals vaccinated with vaccine -associated "Velshikolisan" against anaerobic dysentery, infectious enterotoxaemia, edematous disease, colibacillosis animals.*

Keywords: Association of microorganisms, microbes-associants, associated vaccine, specific agglutinins, antibody titers, antigen competition.

Рецензент – кандидат ветеринарных наук **О. О. Кучерявенко**

Рукопис надійшов 27. 02. 2014 року.