

УДК: 619 : 084 / 615.371

В. П. РИЖЕНКО доктор ветеринарних наук, професор

Г. Ф. РИЖЕНКО, кандидат біологічних наук

О. І. ГОРБАТЮК, кандидат ветеринарних наук

В. О. АНДРІЯЩУК, кандидат ветеринарних наук

О. М. ЖОВНІР, Т. М. УХОВСЬКА, 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)

СПЕЦИФІЧНИЙ ІМУНІТЕТ У ТВАРИН ЗА ЩЕПЛЕННЯ АСОЦІЙОВАНОЮ ВАКЦИНОЮ «НЕКРОСАЛЬМ» ПРОТИ НЕКРОБАКТЕРІОЗУ ТА САЛЬМОНЕЛЬОЗУ

*У статті представлені результати досліджень стосовно визначення імунологічного статусу організму тварин щеплених асоційованою вакциною «Некросальм» за рівнем титрів специфічних аглютининів до *F. necrophorum*, *S. enteritidis*, *S. choleraesuis*, *S. typhisuis* за постановки РА.*

Ключові слова: асоційована вакцина, імунологічний статус, імунізація, титри антитіл, специфічні аглютиніни.

В етіології некробактеріозу асоціативна мікрофлора відіграє суттєве значення у виникненні інфекційного процесу, ускладнюючи перебіг захворювання. Представники мікробних спільнот в організмі сприйнятливих тварин своїми ферментативними системами підсилюють дію збудника некробактеріозу і тим самим впливають на зростання ступеню вірулентності останнього. Актуальним питанням наразі є створення лікувально-профілактичних засобів у вигляді асоційованих вакцин для боротьби із ускладненими формами перебігу некробактеріозу [1–4].

Завдячуючи досвіду в питаннях імунізації тварин проти некробактеріозу та за його ускладненого перебігу, основною вимогою стосовно захисту тварин є ефективність вакцинних препаратів [5]. Тому, проведення серологічного контролю імунного статусу у щеплених тварин надає можливість підтвердити специфічність імунітету, дослідити рівень його напруженості і тривалості після вакцинації, на основі чого визначити ефективність застосованого профілактичного засобу [6, 7].

Метою нашої роботи було вивчення імунологічної перебудови в організмі овець і свиней, дворазово щеплених асоційованою вакциною «Некросальм» проти некробактеріозу та сальмонельозу, за рівнем титрів специфічних аглютининів.

Матеріал і методи досліджень. Робота виконана на базі лабораторії анаеробних інфекцій ІВМ НААН України (м. Київ), експериментальній базі «Пилиповичі», фермі із відгодівлі свиней АФ «Матюші» Білоцерківського району, Київської області упродовж 2006 – 2013 рр.

Для проведення експерименту сформовано дві групи тварин – дослідна та контрольна, за видом тварин (вівці, свині) та віковими даними. Кожна група овець складалася із 6 голів тварин, віком до 3 років; однакових за екстер'єрними показниками; свиней – із 10 голів, віком 2 – 4 міс., відповідних за типом та конституцією (табл.1).

Таблиця 1

Схема постановки дослідів за принципом пар–аналогів

Призначення групи	Підготовчий період	Обліковий період	
		перший підперіод	другий підперіод
контрольна	ОК	ОК	ОК
дослідна	ОК*	ОК + перше щеплення вакциною «Некросальм»	ОК + повторне щеплення вакциною «Некросальм»
тривалість періоду, діб	14	14	28

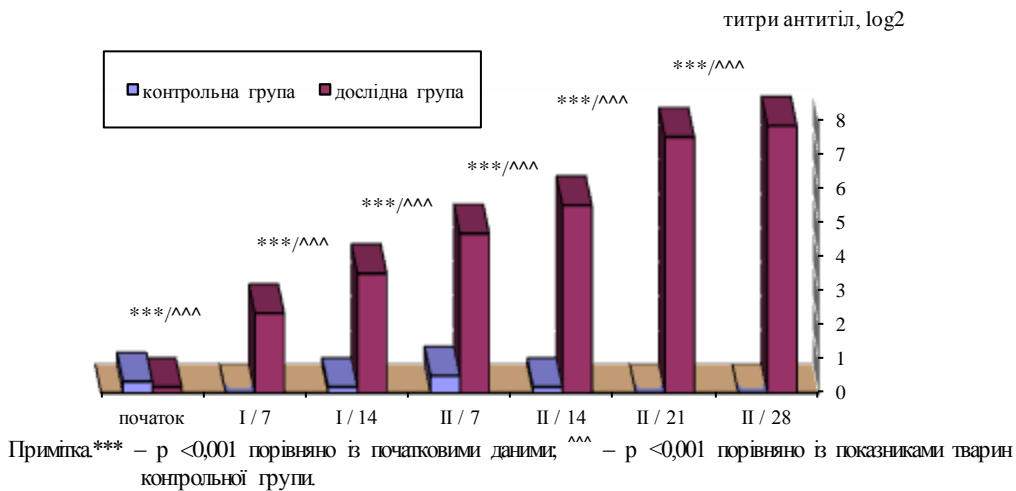
Примітка: ОК*– основний комплекс господарських заходів, утримання та годівля.

У підготовчий період тривалістю 14 діб, тварин однаково годували та утримували в одних і тих же умовах, обстежували клінічно та оцінювали стан їх здоров'я. За підготовчий період будь-яких фізіологічних змін в організмі тварин дослідних та контрольних груп не виявлено, тому всі були допущені до проведення експерименту.

Дворазове щеплення відповідного виду тварин дослідних груп проводили асоційованою інактивованою концентрованою вакциною «Некросальм» проти некробактеріозу та сальмонельозу власного виробництва, серія № 2, контроль № 2 для овець та серія № 3, контроль № 3 для свиней. Щеплення обох видів тварин проведені в об'ємі по 3,0 см³ з інтервалом 14 діб [8].

Визначення титрів антитіл, специфічних до *F. necrophorum*, *S. enteritidis*, *S. cholerae suis*, *S. typhisuis* проводили класичним методом постановки РА за описом В.М. Івченка (1997) [9]. Статистичну обробку одержаних результатів досліджень проводили із використанням програми «Excel–97» для Windows (Т.Ф. Лакін, 1990). Критерій вірогідності визначали по Ст'юденту з урахуванням порогу вірогідності [10].

Результати власних досліджень. Результати досліджень показали, що перед щепленнями в сироватці крові овець і свиней обох груп – дослідних і контрольних, було виявлено сліди специфічних антитіл до *S. enteritidis*, *S. cholerae suis*, *S. typhisuis*, та *F. necrophorum* в низьких титрах, що ймовірно, свідчило про контамінацію доквілля збудниками та підтверджувало можливість їх пасажування через організм сприйнятливих тварин, підвищення вірулентності і створювало постійні ризики виникнення захворювань (табл. 2.). Слід зауважити, що упродовж терміну експерименту результати серологічних досліджень сироваток крові тварин контрольної групи із відповідними антигенами показали постійну наявність незначної кількості специфічних антитіл, що засвідчувало присутність патогенів в доквіллі рис.1.



Аналіз результатів досліджень сироваток крові у імунованих овець і свиней через 7 дб після першого щеплення показав, що в усіх дослідних групах тварин спостерігалось вірогідне зростання вмісту специфічних антитіл до антигенів *F. necrophorum*, *S. choleraesuis*, *S. typhisuis* і *S. enteritidis* в 2,6; 2,7; 6,6 та 13,8 разів відповідно ($p < 0,001$). За закінчення експерименту рівень специфічних аглютининів до *F. necrophorum* овець досягав кількісного вмісту, який переважав початкові дані в 46,1 рази (рис. 2.), що засвідчувало імуногенність вакцинного препарату за його застосування тваринам.

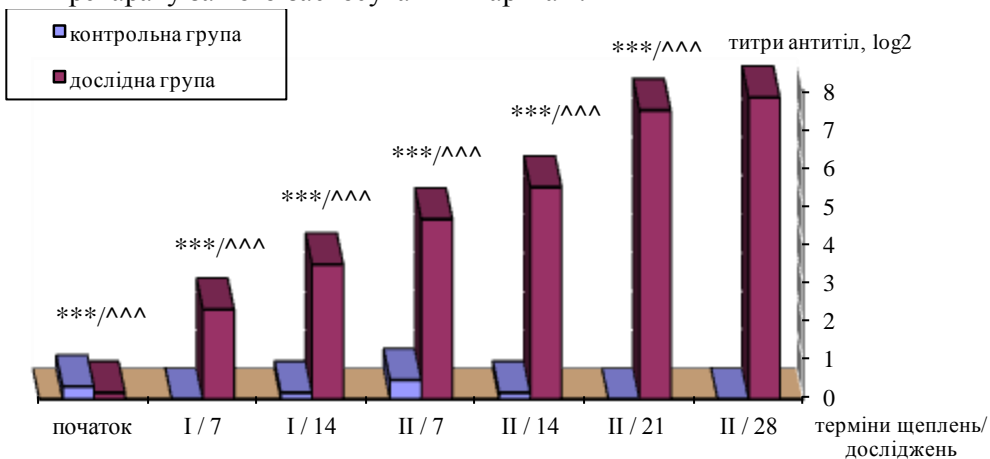


Рис. 2. Динаміка специфічних аглютининів до

Примітка *** – $p < 0,001$ порівняно із початковими даними; ^^^ – $p < 0,001$ порівняно із показниками тварин контрольної групи.

Дворазова імунація свиней зумовлювала нагромадження антитіл, специфічних до антигену *F. necrophorum* в сироватці крові тварин, які вірогідно перевищували початкові та дані тварин контрольної групи в 19,3 і 25,7 рази відповідно (рис. 3.), що забезпечувало профілактичний ефект застосування асоційованої вакцини «Некросальм» проти некробактеріозу та сальмонельозу.

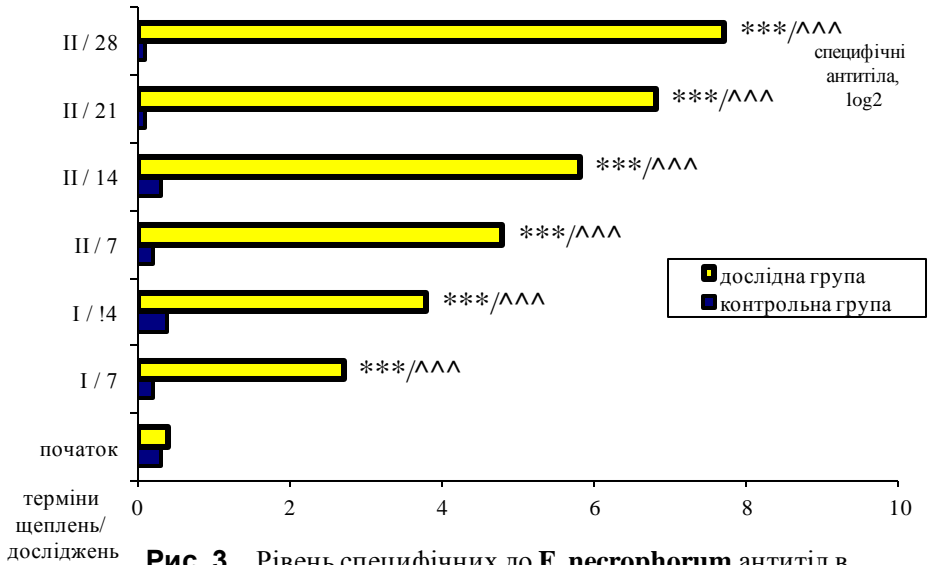


Рис. 3. Рівень специфічних до *F. necrophorum* антитіл в сироватці крові щеплених свиней

Примітка *** – p <0,001 порівняно із початковими даними; ^^^ – p <0,001 порівняно із показниками тварин контрольної групи.

Таблиця 2

Рівень титрів специфічних аглютининів в сироватці крові щеплених тварин;
 $M \pm m, \log_2, n_{ов}=6, n_{св}=10$

Групи тварин	Антиген збудника	Початкові дані	Після щеплень через, діб					
			першого		повторного			
			7	14	7 (21)	14 (28)	21 (35)	28 (42)
1	2	3	4	5	6	7	8	9
вівці								
контрольна	<i>S. enteritidis</i>	0,17±0,01	0,17±0,01	0,17±0,01	0,33±0,01	0,33±0,01	–	0,17±0,01
дослідна		0,33±0,01	2,17±0,33 ***/^^^	3,17±0,33 ***/^^^	4,17±0,17 ***/^^^	5,67±0,17 ***/^^^	6,33±0,17 ***/^^^	7,5±0,17 ***/^^^
контрольна	<i>F. necrophorum</i>	0,33±0,01	–	0,17±0,01	0,50±0,01	0,17±0,01	–	–
дослідна		0,17±0,01	2,33±0,01 ***/^^^	3,50±0,01 ***/^^^	4,67±0,01 ***/^^^	5,50±0,17 ***/^^^	7,50±0,17 ***/^^^	7,83±0,33 ***/^^^
свині								
контрольна	<i>S. choleraesuis</i>	0,20±0,01	0,60±0,02	0,20±0,01	–	0,40±0,11	0,20±0,01	0,40±0,02
дослідна		0,80±0,04	3,80±0,20 ***/^^^	4,60±0,01 ***/^^^	5,20±0,20 ***/^^^	6,00±0,01 ***/^^^	6,60±0,17 ***/^^^	7,00±0,4 ***/^^^
контрольна	<i>S. typhisuis</i>	–	0,10±0,01	–	–	–	–	0,10±0,01
дослідна		0,10±0,01	2,80±0,20 ***/^^^	4,20±0,20 ***/^^^	5,30±0,10 ***/^^^	6,20±0,10 ***/^^^	7,00±0,20 ***/^^^	7,80±0,20 ***/^^^

Продовження таблиці 2

контрольна	<i>F. necrophorum</i>	0,30±0,01	0,20±0,01	0,40±0,01	0,20±0,01	0,30±0,01	0,10±0,01	0,10±0,01
дослідна		0,40±0,01	2,70±0,20 ***/^^^	3,80±0,20 ***/^^^	4,80±0,20 ***/^^^	5,80±0,20 ***/^^^	6,80±0,20 ***/^^^	7,70±0,20 ***/^^^

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

Нами здійснено контроль рівня антитіл, специфічних до сальмонельозних антигенів в сироватці крові щеплених тварин – *S. enteritidis* овець, *S. cholerae*, і *S. typhisuis* свиней.

Аналіз результатів досліджень показав вірогідне зростання специфічних до *S. enteritidis* антитіл у щеплених овець відповідно в 22,7 і 44,1 рази порівняно із вихідними та показниками тварин контрольної групи (рис. 4.). За аналізу результатів серологічних досліджень сироваток крові щеплених свиней із антигенами *S. choleraesuis* *S. typhisuis*, які є складовими асоційованої вакцини «Некросальм» і таких, що найчастіше виділяють при сальмонельозних інфекціях у свиней, виявлено імунологічну відповідь організму за вірогідним зростанням титрів специфічних аглютининів. Так, вміст специфічних до *S. choleraesuis* антитіл вірогідно збільшувався в 8,8 і 17,5 разів (рис.5.) порівняно із початковими та даними тварин контрольної групи ($p < 0,001$).

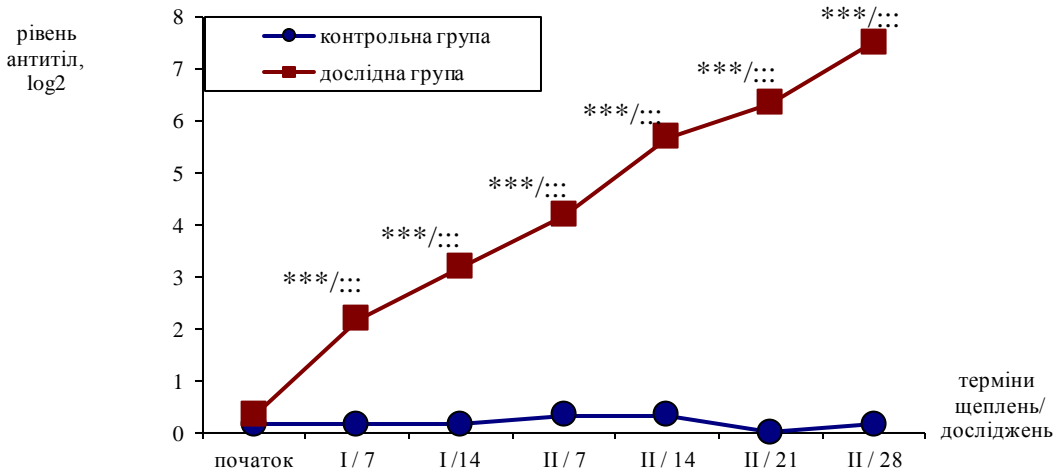


Рис. 4. Рівень титрів специфічних до *S. enteritidis* антитіл у щеплених овець

Примітка. *** – $p < 0,001$ порівняно із початковими даними; ^^ – $p < 0,001$ порівняно із показниками тварин контрольної групи.

Стосовно нагромадження в сироватці крові імунізованих свиней специфічних до *S. typhisuis* антитіл спостерігалось вірогідне зростання їх кількісного вмісту в десятки разів порівняно із вихідними та показниками тварин контрольної групи, адже титри у нещеплених тварин на початку дослідження склали $0,10 \pm 0,001 \log_2$, а за закінчення експерименту – $7,8 \pm 0,20 \log_2$.

Висновки. 1. Виявлено, що дворазова імунізація овець і свиней асоційованою вакциною «Некросальм» проти некробактеріозу та сальмонельозу зумовлює вірогідне нагромадження специфічних аглютининів до *F. necrophorum*, *S. enteritidis* овець, які вірогідно перевищували початкові і показники у тварин контрольних груп відповідно в 46 та 22,7 і 44,1 рази ($p < 0,001$).

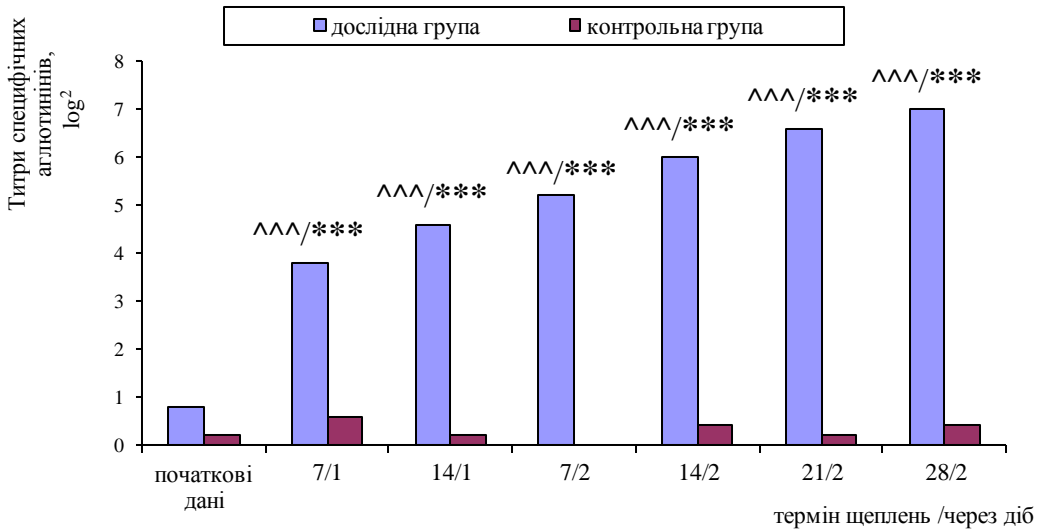


Рис. 5. Титри специфічних до *S. choleraesuis* аглютининів в сироватці крові щеплених свиней

Примітка: *** – $p < 0,001$ порівняно із початковими показниками; ^^ – $p < 0,001$ порівняно із показниками тварин контрольної групи.

2. Встановлено, що у свиней, за дворазового застосування вакцинного препарату, спостерігався високий рівень антитіл, специфічних до *F. necrophorum*, *S. choleraesuis* і *S. typhisuis*, що перевищував початкові показники відповідно в 8,8; 17,5 і більше разів ($p < 0,001$) та засвідчував профілактичний ефект вакцинного препарату проти некробактеріозу та сальмонельозу тварин.

Перспективою подальших досліджень є вивчення показників антиоксидантного захисту організму тварин за застосування асоційованої вакцини «Некросальм» проти некробактеріозу та сальмонельозу.

Список використаної літератури

1. В. П. Риженко Теоретичне та експериментальне обґрунтування розробки нових вакцин / В. П. Риженко, Г. Ф. Риженко, О. І. Горбатюк, В. В. Риженко, В. О. Андріяшук та ін. // Ветеринарна біотехнологія. – № 13 (1). – 2008. – С. 51 – 62.
2. В. П. Риженко Біотичні відносини *Fusobacterium necrophorum* із асоціаціями аеробних мікроорганізмів / В. П. Риженко, Г. Ф. Риженко, О. І. Горбатюк, В. О. Андріяшук, О. М. Жовнір, Л. С. Мілько, П. П. Каменчук // Ветеринарна біотехнологія. – № 14. – 2009. – С. 278 – 285.

3.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.

4.А. А. Сидорчук Система мероприятий по борьбе с некробактериозом крупного рогатого скота и копытной гнилью овец / А. А. Сидорчук, С. Д. Панасюк, Н. Н. Кружнов и др. // Ветеринария. – 1999. – № 6. – С. 23 – 27.

5. В. П. Риженко Особливості імуногенезу при застосуванні асоційованих вакцин / В. П. Риженко, Г. Ф. Риженко, В. В. Риженко // Проблемы и перспективы паразитологии. – Харьков – Луганск, 2007. – С. 149 – 150.

6. В. П. Риженко Стан Т- клітинної ланки імунітету у корів за щеплення проти некробактеріозу вакциною «Некросан» / В. П. Риженко, Г. Ф. Риженко, О. І. Горбатюк, В. О. Андріяшук та ін. // Ветеринарна біотехнологія. – Бюл. № 18. – 2011. – С. 215 – 219.

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. Патент на корисну модель № 18335, 2006 (54) Вакцина «Некросальм» асоційована інактивована концентрована проти некробактеріозу (фузобактеріозу) та сальмонельозу тварин (72) Риженко В. П., Риженко Г. Ф., Кучерявенко О. О., Дементьева С. А., Андріяшук В. О., Галка І. В., Жовнір О. М. (73) Інститут ветеринарної медицини УААН.

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.

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

СПЕЦИФИЧЕСКИЙ ИММУНИТЕТ У ЖИВОТНЫХ ПРИВИТЫХ АССОЦИИРОВАННОЙ ВАКЦИНОЙ «НЕКРОСАЛЬМ» ПРОТИВ НЕКРОБАКТЕРИОЗА И САЛЬМОНЕЛЛЕЗА / В. П. Рыженко, Г. Ф. Рыженко, О. И. Горбатюк, В. А. Андріяшук, А. М. Жовнір, Т. Н. Уховская, А. В. Рудой, С. Н. Тютюн, Н. А. Теплюк, П. П. Каменчук, Б. Н. Терешко

*В статье изложены результаты исследований относительно определения иммунологического статуса организма у вакцинированных ассоциированной вакциной «Некросальм» животных по уровню титров специфических агглютининов к *F. necrophorum*, *S. enteritidis*, *S. choleraesuis*, *S. typhisuis* при постановке РА.*

Ключевые слова: ассоциированная вакцина, иммунологический статус, иммунизация, титры антител, специфические агглютинины, контаминация.

SPECIFIC IMMUNITY IN VACCINATED ANIMALS ASSOCIATED VACCINE "NEKROSALM" AGAINST NEKROBAKTERIOZOM AND SALMONELLOSIS / V. P. Rizhenko, G. F. Rizhenko, O. I. Gorbatyuk, V. A. Andriyashchuk, A. M. Zhovnir, T. N. Ukhovska, A. V. Rudoy, S. N. Tiutiun, N. A. Teplyuk, P. P. Kamenchuk, B. N. Tereshko

*The article presents the results of studies on the definition of the immunological status of the organism in vaccinated associated vaccine "Nekrosalm" animals in the level of specific agglutinin titers to *F. necrophorum*, *S. enteritidis*, *S. cholerae suis*, *S. typhisuis* when setting RA.*

Keywords: combination vaccine, immunological status, immunization, antibody titers specific agglutinins, contamination.

Рецензент – кандидат ветеринарних наук О. А.Тарасов

Рукопис надійшов 27. 02. 2014 року.