

Висновки. 1. За допомогою біоаналізатора «Агілент-2100» було визначено кількість протеїнів та їх сумарну масу і процентне співвідношення у кожній вакцині. Усі досліджені препарати відповідали нормативами європейської фармакопеї по загальній кількості білку. Субодиночні вакцини містили по 2 білкових компонента, розщеплена вакцина «Паненза» – 5 білкових складових. Молекулярна маса білкових фрагментів різнилась від 15 KDa до 50 KDa, переважна більшість протеїнів була представлена фрагментами з молекулярною масою $26 \pm 1,0$ KDa, $32 \pm 1,0$ KDa, $42 \pm 1,0$ KDa, $48 \pm 2,0$ KDa. Враховуючи те, що молекула гемаглютиніна має масу 225 KDa і являє собою тример з масою кожної одиниці 75 KDa, а тетраметр нейрамінідази важить біля 200-250 KDa, можливо припустити, що на етапах виробництва досліджених вакцин має місце нарізка поверхневих білків на більш дрібні фрагменти.

2. Після дворазової імунізації мишей усі вакцини, що були в експерименті, показали достатню індукцію продукції специфічних антитіл (не нижче 1:40 після першої вакцинації та не нижче 1:80 після введення другої дози у 80 % тварин). Найвищі титри гальмування гемаглютинації були отримані після щеплення моновалентною субодиночною вакциною «Моногриппол» (не нижче 1:80 після першої імунізації та не нижче 1:320 після повторного щеплення).

3. Оцінюючи зв'язок між імуногеністю та кількістю специфічного білка у вакцин, ми довели, що значний приріст продукції антитіл може викликатися двома шляхами: або високою кількістю вірусного антигену («Паненза», субстрат «Моногриппол»), або використанням сучасних ад'ювантів («Моногриппол»). Коефіцієнт зв'язку «імуногеність/кількість білку» для вакцини «Моногриппол» значно перевищував показники інших препаратів. Цей показник може використовуватися як науковцями, так і виробниками вакцин для більш ефективного скринінгу кандидатів у офіційні препарати.

4. Враховуючи на те, що у теперішній час в Україні не існує власних рекомендацій щодо вивчення протигрипозних вакцин і при реєстрації вакцин відповідні державні установи змушені використовувати АНД виробника, рекомендації, прийняті в ЕС та Росії, необхідно рекомендувати фармацевтичному комітету України при створенні власних нормативних документів, регламентуючих оцінку протигрипозних вакцин, включити в перелік досліджень визначення коефіцієнта «імуногеність/кількість білку» для більш ретельнішої оцінки ефективності та безпечності вакцин.

Список літератури

1. В.Ф. Лавров, Е.В. Русакова, А.А. Шапошников и др. Основы иммунологии, эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней. – М.:ЗАО «МП Гигиена», 2007. – 311 с.
2. Грипп и другие респираторные инфекции: эпидемиология, профилактика, диагностика и терапия. Под ред. Киселева О.И., Маринича И.Г., Сомининой А.А. – СПб, 2003. – 244 с.
3. Г. Ада, А. Рамсей. Вакцины, вакцинация и иммунный ответ: Руководство / М.: Медицина, 2002. – 328 с.
4. Kunzel, W., Glathe, H., Engelman, H., Van Hoescke Ch. Kinetics of humoral antibody response to trivalent inactivated split influenza vaccine in subjects previously vaccinated or vaccinated for the first time // *Vaccine*. – 1996. – V.14, №12. – P. 1108-1110.
5. Laemmli, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature*. – 1970. – V.227. – P. 680-685.
6. Остерман, Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот / М.:МЦНМО, 2002. – 248 с.
7. Л.С. Резникова, Р.В. Эпштейн-Литвак, М.И. Леви Серологические методы исследования при диагностике инфекционных болезней - Москва, 1962. – 178 с.
8. Бектимиров, Т.А., Лонская, Н.И., Агафонова, Н.А. и др. Методы определения показателей качества иммунобиологических препаратов для профилактики и диагностики гриппа: Методические указания. – М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2003. – 32 с.
9. Грипп та його профілактика/ за ред. Дзюблик І.В., Широкова В.П. – К., 2005. – 194 с.
10. Chaloupka, I., Schuler, A., Marschall, M., Meier-Ewert, H. Comparative analysis of six European influenza vaccines // *Eur.J.Clin.Microbiol.Infect.Dis.* – 1996. – V.15. – P. 121-127.
11. Rumyantsev, A. A., Zhang, Z., Gao, O. et al. Direct random insertion of an influenza virus immunologic determinant into the NS1 glycoprotein of a vaccine flavivirus // *Virology*. – V. 396, № 2. – 2010. – P. 329-338.
12. Караулов, А.В. Инфекции и иммунодефициты – приоритеты сегодня // *Практикующий врач*. – 1997. – №9. – С.3-4.
13. Хайтов, Р.М., Некрасов, А.В., Горбунов, М.А. и др. Вакцинация детей гриппом // *Вакцинация*. – 2001. – Т.17, №5. – С. 8-12.
14. Berančič, J., Prymula, R., Chliber, R. et al. Evaluation of reactogenicity and immunogenicity of two influenza vaccines (vaxigrip and fluarix) in the season 1996-1997 // *Cent.Eur.J.Public Health*. – 1998. – №64. – P. 269-273.
15. Spila-Alegiani, S., Salmaso, S., Rota, M.S. Reactogenicity in the elderly of nine commercial influenza vaccines: results from the Italian SVEVA study. Study for the evaluation of adverse events of influenza vaccinations // *Vaccine*. – 1999. – V.17. – P. 1898-1904.

CONNECTION OF IMMUNOGENITY OF PANDEMIC FLU VACCINES WITH FEATURES OF THEIR PROTEIN COMPOSITION

Volyansky A. Yu.

Institute of Microbiology and Immunology named after I.I. Mechnikov, Kharkiv

The article presents investigations of immune response to vaccination of white mice with different pandemic flu vaccines and protein composition of this preparation. A new coefficient of antibody titer/quantity of specific proteins was suggested for estimation of vaccine efficiency. "Monogrippol" had highest level of this index.

УДК 619:576.31:616.155.392

ОЦІНКА ІМУНОСУПРЕСИВНОГО СТАНУ ПРИ КЛІНІЧНОМУ ЛІМФОЛЕЙКОЗИ ЗА МОРФОМЕТРИЧНИМИ ЗМІНАМИ ЛІМФАТИЧНИХ ВУЗЛІВ

Горбатенко В.П.

Харківська державна зооветеринарна академія

Шутченко П.О.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» м. Харків

Імунна система має високочутливі механізми швидкого реагування на зовнішні впливи і відповідає на них глибокою перебудовою. Лімфатичні вузли є важливим компонентом імунної системи, вони приймають безпосередню участь в адаптаційно-компенсаторних реакціях організму до різних подразнень, у тому числі інфекційної етіології [3, 4, 5].

Серед факторів інфекційної етіології, що викликають імуносупресивний стан організму тварин, особливе місце займає вірус лейкозу великої рогатої худоби. Вражаючи органи імунної системи, збудник обумовлює прояв імунодефіциту, завдяки чому значно знижується резистентність організму тварин [1, 2].

Метою наших досліджень було вивчення імунобіологічних змін у лімфатичних вузлах інфікованих вірусом лейкозу корів, що знаходились у стадії клінічного прояву лімфолейкозу.

Розділ 7. Імунологія, імуноморфологія та імунохімія

Матеріал і методика. У досліді використано матеріал від трьох корів 7-8 річного віку з клінічними ознаками лімфолейкозу. Коров утримували в умовах тваринницького господарства – філії «Богоявленське» агрофірми «Агротіс» Мар'янського району Донецької області. За результатами серологічних досліджень на лейкоз в реакції імунодифузії (РІД) титр антитіл до лейкозного антигену був в межах 1:4-1:8. Чисельність лейкоцитів в 1 см³ периферичної крові становила у окремих особин від 16x10⁶ до 22x10⁶ клітин. Співвідношення лімфоцитів в лейкоцитарній фракції сягало рівня 84-88 %.

Згідно з вимогами діючого законодавства вищезначених тварин через 10 днів після отримання результатів серологічного дослідження піддано санітарному забою. Для гістологічних досліджень відбирали нижньощелепні (соматичні) та краніальні брижові (вісцеральні) лімфатичні вузли. В якості контролю були використані відповідні лімфатичні вузли інтактних тварин аналогічного віку і породи.

Відібраний матеріал фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну та рідині Карнуа з подальшим заливанням у парафін. Зрізи, що проводили на рівні воріт лімфатичного вузла, забарвлювали гематоксиліном і еозином та методом Домінічі.

Морфометричні дослідження структурних компонентів лімфатичних вузлів проводили окулярмікрометром МОВ-15х. Цифровий матеріал оброблено статистично за Н.Н. Плохінським.

Результати досліджень. Гістологічні дослідження лімфатичних вузлів піддослідних тварин свідчать про суттєві зміни будови всіх структурних компонентів та їх клітинного складу. Виявлено ознаки гіперпластично-проліферативних процесів.

Капсула нижньощелепних та брижових лімфатичних вузлів корів з клінічним проявом лімфолейкозу мала ознаки набряку, товщина її становила, відповідно, 248,5±56,1 мкм та 86,3±20,4 мкм. Колагенові волокна в капсулі розміщені доволі крижко. Капсулярні та хілярні трабекули нечисленні. Спостерігали інтенсивну інфільтрацію капсули і трабекул еозинофільними лейкоцитами (рис. 1).

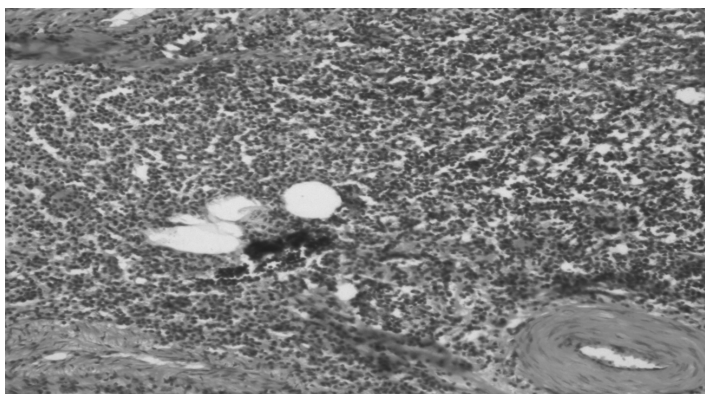


Рис.1 Нижньощелепний лімфатичний вузол піддослідної корови з ознаками еозинофілії (гематоксилін і еозин, × 200).

Встановлено, що підкапсулярний синус, синуси кіркової і мозкової речовини розширені (53,9±5,6 – 65,8±5,3 мкм), в них спостерігали наявність популяції лімфоцитів, поліморфноядерних лейкоцитів, плазматичних клітин різної стадії зрілості. Виявлено збільшення чисельності макрофагів.

В синусах та прилеглий до них кірковій речовині знаходились ділянки деформованих ретикулярних клітин з ознаками набухання і лізису. В стромі лімфатичних вузлів розташовані кровонаповнені судини мікроциркуляторного русла з ознаками набухання і деформації клітин ендотелія.

Внаслідок проліферації лімфоїдних клітин малюнок лімфатичних вузлів піддослідних тварин порушений. Площа, яку займала кіркова речовина і паракортикальна зона, значно менша мозкової. Лімфоїдні вузлики, діаметром 524,6±72,3 мкм у нижньощелепних і 486,5±51,3 мкм у брижових лімфатичних вузлах, знаходились в межах кіркової речовини, до того ж більшість з них не мали гермінативних центрів. Спостерігали гіперплазію лімфоїдних вузликів з наявністю вакуолей, спустошень та дегенеративних клітинних форм. Площа мозкової речовини мала перевагу над кірковою.

Значні зміни мали місце в клітинному складі лімфатичних вузлів піддослідних тварин. Проліферація ретикулярних клітин і посилення макрофагальної реакції були досить вираженими в лімфоїдних вузликах та м'якушевих тяжках. Виявлені ознаки дегенерації лімфоцитів. Лімфоцити представлені переважно молодими слабо диференційованими клітинними формами. (рис.2) Плазмобласти (у більшості) та зрілі плазматичні клітини розташовувались у м'якушевих тяжках і паракортикальній зоні. У мозковій речовині відносно більше, ніж в кірковій, гранулоцитів, особливо еозинофілів різної стадії зрілості.

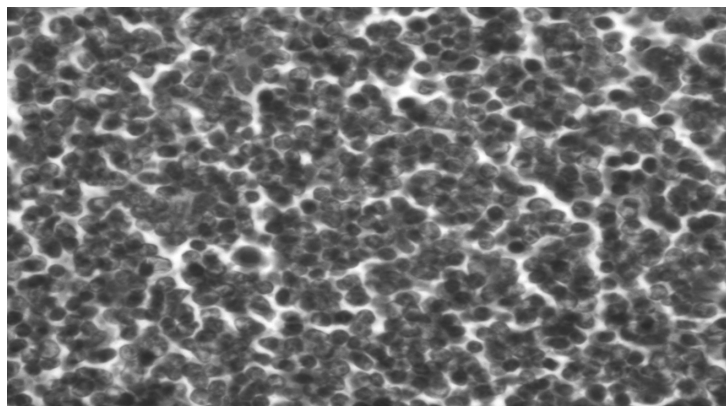


Рис. 2 Проліферація лімфоцитів в брижових лімфатичних вузлах гематологічно хворої корови (гематоксилін і еозин, × 200).

Зазначимо, що динаміка змін морфо-функціонального статусу у нижньощелепних лімфатичних вузлах більше виражена, ніж у брижових.

Висновки.

1. Наявність ознак гіперплазії і проліферації лімфоїдних клітин, деформованих ретикулярних клітин, посилення макрофагальної, плазмоцитарної реакції і еозинofilія свідчать, що імуноетична та бар'єрно-фільтраційна функції лімфатичних вузлів корів з клінічним проявом лімфолейкозу пригнічені.

2. Імуносупресивний стан тварин з клінічними ознаками лімфолейкозу корелює із зниженням резистентності організму, що впливає, з одного боку, на підвищення сприйнятливості до умовно та облігатнопатогенних збудників, а з іншого – обумовлює зниження обсягів та якості тваринницької продукції, загибель та ранню вибраковку поголів'я.

Список літератури

1. Горбатенко, С.К. Эффективность вакцинопрофилактики инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота на фоне иммунодефицита, обусловленного вирусом лейкоза/ Горбатенко С.К., Стеценко В.И., Кучерявенко Р.А. и др.// Междунар. н.-произв.конф. «Актуальные проблемы ветеринарной патологии и морфологии животных» (Воронеж, 22-23 июня 2006 г.): материалы. – Воронеж., 2006. – С. 269-272.
2. Вивчення елементів імуносупресивного стану у молодняка великої рогатої худоби під впливом асоціації вірусів С.К. Горбатенко [та ін.]: наук-техн. Бюл. ІБТ і ДНДКІВКД. – Львів, 2009. – Вип.10, №4, С. 248-254.
3. Красников, Г.А. Морфофункциональные зоны и трансформация структур лимфатических узлов крупного рогатого скота при изменении их иммунной активности// Ветеринарна медицина/ Міжвідомчий тематичний науковий збірник.Харків,2000. – №77. – С. 168-180.
4. Труфанин, В.А. Функциональная морфология клеток иммунной системы в эксперименте/ В.А.Труфанин,А.В.Шурлыгина, М.В.Робинсон// Морфология.-2005. – №4 – С.20-24.
5. Федоров, Ю.Н. Иммунодефициты крупного рогатого скота/ Ю.Н.Федоров// Ветеринария. – 2006 – №1. – С. 3-5

EVALUATION OF IMMUNE STATE AT CLINICAL LYMPHOLEUCOSIS USING MORPHOMETRICAL CHANGES OF LYMPHONODULES

Gorbatenko V.P.

Kharkiv State Zooveterinary Academy

Shutchenko P.O.

NSC "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv

Cattle lympholeucosis leads to immunosuppressive state proved by changes in structure and cell composition in lymphonodules. It is expressed by hyperplasia and lymphoid cell proliferation, macrophage and plasmocyte reaction increasing, eosinophilia.

УДК 636.5:611.4:612.071.1:615.37

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ АССОЦИИРОВАННЫХ ВАКЦИН ПРОТИВ БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА, ИНФЕКЦИОННОГО БРОНХИТА И ИНФЕКЦИОННОЙ БУРСАЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ В ЛАБОРАТОРНЫХ И ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ

Громов И.Н., Луциц А.А.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Насонов И.В.

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» НАН Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь

В условиях промышленного птицеводства возникает опасность возникновения инфекционных болезней, которые приводят к значительным экономическим потерям. Для обеспечения стойкого эпизоотического благополучия по инфекционным болезням птиц наряду с общими ветеринарно-санитарными мероприятиями широко применяются различные схемы иммунизации с использованием живых и инактивированных вакцин [2]. Однако нередко эпизоотическая обстановка, складывающаяся на птицеводческих предприятиях, диктует многократное применение птицам различных возрастных групп биопрепаратов против 8-11 инфекционных болезней. Вследствие часто повторяющихся массовых вакцинаций практически не прекращается воздействие стресс-факторов и нагрузка на иммунную систему птиц, что отрицательно сказывается на формировании надёжной защиты, а также приводит к увеличению затрат труда ветеринарных специалистов при выполнении массовых иммунизаций. В связи с этим в последние годы всё чаще используются ассоциированные инактивированные вакцины, применение которых эффективно дополняет использование живых вакцин и позволяет обеспечить у привитых кур напряженный уровень иммунного ответа на протяжении всего продуктивного периода, снизить потери молодняка птиц от инфекционных заболеваний в раннем возрасте за счёт передачи потомству высокого уровня материнских антител [1, 5].

Целью наших исследований было изучение сравнительной иммунологической эффективности применения инактивированных ассоциированных эмульсин-вакцин против инфекционного бронхита кур (ИБК), болезни Ньюкасла (БН) и инфекционной бурсальной болезни (ИББ), разработанных в ИЭВ им. С.Н. Вышелесского НАН Беларуси и ФГУ ВНИИЗЖ (Россия).

Материалы и методы. Исследования были проведены в условиях Оранчицкой птицефабрики, Пружанского района, Брестской области. В опыте было использовано 18000 птиц 114-дневного возраста, подобранных по принципу аналогов и разделённых на 2 группы по 9000 птиц в каждой. Молодняк кур 1-ой (опытной) группы иммунизировали против БН, ИБК и ИББ жидкой инактивированной эмульсин-вакциной ИЭВ им. С.Н. Вышелесского НАН Беларуси. Вакцину вводили согласно Временному Наставлению по ее применению, однократно, внутримышечно, в область бедра, в дозе 0,5 мл. Птиц 2-ой (контрольной) группы иммунизировали против БН, ИБК и ИББ инактивированной эмульсин-вакциной ФГУ ВНИИЗЖ (Россия) согласно Наставлению по ее применению (1-кратно, внутримышечно, в область бедра, в дозе 0,5 мл). Вакцинацию молодняка кур опытной и контрольной групп проводили 114-дневном возрасте.

Содержание специфических антител против вирусов БН, ИБК и ИББ определяли у птиц 1 и 2 групп через 28 дней после вакцинации (в ИФА).