

**ВАКЦИНА ІНАКТИВОВАНА ПРОТИ ІНФЕКЦІЙНОГО РИНОТРАХЕЇТУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ
ДЛЯ ВНУТРІШНЬОШКІРНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ЯК ОДИН ІЗ ЗАСОБІВ СПЕЦИФІЧНОЇ ПРОФІЛАКТИКИ
ЗАХВОРЮВАННЯ**

Малакєєв А.С., Кучеряєнко Р.О., Кучеряєнко Л.М., Тризна Л.П., Кротовська Ю.М.

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

Вірусні респіраторно-кишкові та генітальні інфекції великої рогатої худоби, як і раніше, залишаються головною причиною хвороб молодняка, низького його відтворення та збереженості, бракування та вимушеного забою телят до 6-ти місячного віку. Такий напружений стан епізоотичної ситуації щодо вказаних вірусних інфекцій у тваринницьких господарствах різних форм власності та серед великої рогатої худоби спостерігається в більшості областей України [4]. Частково вдається контролювати дану проблему завдяки впровадженню у виробництво наукових розробок, насамперед ННЦ «ІЕКВМ», таких як набір для діагностики інфекційного ринотрахеїту та інактивована вакцина «Рипавак» проти інфекційного ринотрахеїту, парагрипу-3. Але, проблема профілактики респіраторно-кишкових вірусних інфекцій залишається актуальною і потребує удосконалення вже існуючих засобів специфічної профілактики, шляхом вдосконалення технології виробництва, підбору високоякісних ад'ювантів та введення препаратів за допомогою мікроін'єкцій, що дасть змогу знизити собівартість вакцинації, яка має велике значення при оздоровленні господарства.

Так, наприклад, застосування вакцини за допомогою внутрішньошкірного методу введення дає змогу отримати високу імунну відповідь організму тварини на введення антигену. За допомогою даного способу введення препарату, антиген потрапляє в дермальний слой шкіри, яка має високу концентрацію спеціалізованих імунних клітин (клітини Ларгенганса, лімфоцити, гістіоцити-макрофаги, кератоцити, гранулоцити), які здатні стимулювати імунну відповідь в організмі тварини. Іншими словами внутрішньошкірна вакцинація забезпечує прямий та ефективний доступ антигену до імунної системи організму тварини [1, 2, 3, 5].

На підставі аналізу заходів щодо специфічної профілактики ІРТ ми прийшли до висновку, про необхідність розробки специфічного імунологічного засобу, який би забезпечував напруженість імунітету як найдовше і мав відносно низьку вартість та не потребував великих трудових витрат.

Метою нашої роботи було вивчити імуногенну активність та дослідити показники неспецифічної резистентності вакцини інактивованої проти інфекційного ринотрахеїту ВРХ для внутрішньошкірного застосування.

Матеріали та методи. Імуногенну активність інактивованої вакцини проти інфекційного ринотрахеїту ВРХ для внутрішньошкірного застосування, яка складалася з інактивованого формальдегідом, емульгованого у мінеральному маслі Montanaide Gel культурального вірусу інфекційного ринотрахеїту виробничого штаму Молдавський. За візуального дослідження встановлено, що вакцина являє собою однорідну емульсію, жовтуватого кольору, яка при тривалому збереганні частково розшаровується, але при легкому струшуванні утворюється гомогенна рідина.

Флакони з дослідною серією вакцини щільно закупорені, в них не виявлено сторонніх домішок.

Дослідженням за ДСТУ 4483–2005. «Препарати ветеринарні і імунобіологічні. Методи визначення бактеріальної та грибової контамінації», не встановлено росту мікроорганізмів. Вакцина виявилася стерильною, тобто вільною від бактеріальної, грибової та мікоплазменної контамінації. При перевірці за СОУ 85.20-37.391–2006 «Препарати ветеринарні. Метод визначення нешкідливості» на 10 білих мишах масою по 20 г, яким вакцина вводилася внутрішньом'язово у п'ятиразовій дозі (2 см³), внутрішньошкірно 4 телятам у дворазовій дозі (0,8 см³) впродовж 10 добового спостереження тварини залишалися клінічно здоровими. Серед щеплених мишей не було встановлено жодного випадку загибелі або клінічного прояву захворювання, а при введенні вакцини телятам не спостерігали порушень їх загального фізіологічного стану, що свідчить про її нешкідливість.

У неблагополучному з ІРТ господарстві Харківської області вивчали імуногенну активність вакцини в дослідах на телятах породи червона ряба, двомісячного віку, масою по 70-90 кг. Для цього було сформовані 5 дослідних груп тварин по 7 голів у кожній.

Вакцину вводили внутрішньошкірно в ділянці середньої третини шиї за допомогою безголкового ін'єктора (БИ-7) з дотриманням усіх правил асептики.

Першій групі вакцину дворазово з інтервалом у 21 добу вводили в дозі 0,4 см³ внутрішньошкірно, другу та третю групу імунізували комерційними вакцинами «Рипавак» (проти ІРТ, ПГ-3) та «Комбовак» (проти ІРТ, ПГ-3, ВД, респіраторно-синтиціальної інфекції, рота-коронавірусних інфекцій), які вводили внутрішньом'язово в дозі 5 см³ відповідно до листівки-вкладки з її застосування. Четвертій групі вводили внутрішньошкірно середовище 199 з додаванням 15 % ад'юванту в дозі 0,4 см³ дворазово з інтервалом у 21 добу, п'ята група була контрольною (інтактні тварини).

Результати дослідження. У післявакцинальний період упродовж 60 діб спостереження підвищення температури тіла і клінічних ознак захворювання у щеплених вакциною телят не виявлено, у той час як з 7 телят, яким вакцина не щепилася, у 5-ти зареєстровано короткочасне, впродовж 3-5 діб, підвищення температури тіла на 0,5-1,0 °С, риніт та кон'юнктивіт зі слизовозаним витіканням з носа і очей. Перехворювання телят продовжувалось упродовж 8-10 діб.

У деяких телят у місяцях введення вакцини були виявлені олеоми (утворення у вигляді пухлин), не болючі при пальпації, які впродовж 2-х тижнів розсмоктувались.

За вивчення динаміки імунного стану у щеплених вакциною телят впродовж 60 діб (термін спостереження) виявляли антитіла, титр яких на 21 добу сягав $7,0 \pm 0,32 \log_2$, тобто зростав на $3 \log_2$ по відношенню до вихідного (табл. 1), що на $1 \log_2$ перевищувало показники імунної відповіді при застосуванні вакцини «Рипавак» та на $1,8 \log_2$ вакцини «Комбовак». Найбільш виражене напруження імунітету за результатами серологічного дослідження спостерігали від 30-ї доби.

Таблиця 1 – Результати лабораторного вивчення на телятах імуногенної активності інактивованої вакцини проти інфекційного ринотрахеїту ВРХ для внутрішньошкірного застосування

Групи тварин	Склад вакцини, (доза введення)	Титр антитіл, \log_2			
		до введення	на 21 добу (повторне введення)	на 30 добу	на 60 добу
1	15 % ад'юванту + 85% інактивованого вірусного антигену (0,4 см ³).	4,0± 0,19	7,0 ± 0,32	8,6± 0,20	8,0 ± 0,32
2	Вакцина «Рипавак» (5 см ³).	4,0± 0,14	6,0 ± 0,14	7,03± 0,18	7,5 ± 0,14
3	«Комбовак»	4,0± 0,12	5,2±0,12	5,8±0,11	6,0 ± 0,9
4	Контроль: 15 % ад'юванту + 85 % середовища 199 (0,4 см ³).	4,3± 0,20	4,1± 0,10	4,4± 0,24	4,4 ± 0,19
5	Інтактні тварини	4,5± 0,17	4,23 ± 0,13	4,27±0,15	4,0 ± 0,18

Титр вірусонейтралізуючих антитіл сягав $8,6 \pm 0,2 \log_2$, тобто приріст становив $4,6 \log_2$ по відношенню до вихідного показника, у той час як у щеплених телят вакциною «Рипавак» та «Комбовак» лише на 3 та $2,8 \log_2$, відповідно. У наступні 30 діб імунний стан телят фактично не змінювався, титр антитіл залишався на тому ж рівні.

Для більш детальної характеристики імунологічних змін, які відбувались в організмі щеплених тварин вакциною інактивованою проти інфекційного ринотрахеїту ВРХ для внутрішньошкірного застосування, були досліджені показники неспецифічної резистентності, зокрема досліджено динаміку змін загального білка, альбуміну, глобуліну, циркулюючих імунних комплексів та серомукоїдів (табл. 2).

Таблиця 2 – Результати біохімічних досліджень крові телят, внутрішньо-шкірно щеплених вакциною на основі ад'юванту Montanide Gel

Групи тварин	Загальний білок, г/л	Альбуміни, г/л	Глобуліни, г/л	А/Г	ЦІК, мг/мл	Серомукоїди (Sm), мг/мл
14-та доба після першого введення						
I	62,1±2,10	24,1±2,45	40,1±0,70	0,58±0,04	0,14±0,01	0,16±0,01
II-к	50,6±1,02	19,5±0,50	26,5±3,6	0,56±0,02	0,12±0,01	0,15±0,004
7-ма доба після другого введення						
I	70,6±2,9	21,6±3,2	50,9±3,4	0,49±0,06	0,14±0,01	0,15±0,01
II-к	56,7±1,45	19,6±0,8	36,5±1,4	0,58±0,08	0,12±0,006	0,14±0,0
14-та доба після другого введення						
I	64,1±2,9	24,2±1,7	42,8±2,5	0,51±0,02	0,15±0,01	0,14±0,01
II-к	57,8±0,6	19,9±3,0	24,2±1,7	0,57±0,05	0,11±0,005	0,13±0,005
45-та доба після другого введення						
I	61,3±1,5	25,6±1,7	42,2±2,4	0,50±0,04	0,19±0,003	0,14±0,02
II-к	56,8±3,1	19,1±2,2	32,6±4,1	0,79±0,17	0,16±0,01	0,11±0,01

Примітки: I гр. – вакцина для внутрішньошкірного введення в дозі $0,4 \text{ см}^3$, 15 % ад'юванту, інтервал введення 21 доба; II гр. – контроль: 15 % ад'юванту + 85 % середовища 199 ($0,4 \text{ см}^3$).

Треба зазначити, що вміст загального білка у телят першої групи зростав протягом всього періоду дослідження так на 14 добу після першого введення цей показник збільшився на 22,7 %, на 7-му добу після другого введення 24,5 %, на 14 добу після другого введення 11 % та на 45 добу після другого введення 8 % відносно контрольної групи. Коливання вмісту загального білка в сироватках крові дослідних телят корелювало зі змінами альбумінів та глобулінів. Підвищення рівня глобулінів на 14 добу після першого введення складало 54 %, на 7-му добу після другого введення 39 %, на 14 добу після другого введення 76 % та на 45 добу після другого введення 29 % по відношенню до контрольної групи.

Концентрація серомукоїдів у телят першої групи була в межах контрольних значень, що говорить про відсутність імуносупресивних властивостей досліджуваного зразка вакцини.

Відмічали стабільне достовірне ($p \leq 0,05$) підвищення рівня циркулюючих імунних комплексів. Так цей показник збільшився на 14 добу після першого введення на 16 %, на 7-му добу після другого введення на 16 %, на 14 добу після другого введення на 36 % та на 45 добу після другого введення на 19 % по відношенню до контролю.

Зважаючи на те, що імунні комплекси середньої молекулярної маси є активаторами системи комплементу і В-лімфоцитів, можна вважати, що захисний ефект за внутрішньошкірного введення вакцини інактивованої проти ІРТ значною мірою забезпечується активацією гуморальної ланки імунітету, що в свою чергу підтверджується значним підвищенням титру вірусонейтралізуючих антитіл.

Висновки: 1. Встановлено, що розроблена у відділі вірусології вакцина для внутрішньошкірного застосування забезпечує створення напруженого специфічного імунітету до вірусу ІРТ на рівні $7,0-8,6 \log_2$.

2. Використання даного препарату з високою імунологічною активністю економічністю введення (доза $0,4 \text{ см}^3$) й продуктивністю процесу вакцинації (за допомогою безголкового ін'єктору) дасть змогу ефективно реалізовувати програму боротьби та ерадикації ІРТ ВРХ.

Список літератури

1. Безигольный способ введения биологических препаратов в организм [Текст]: монография / А. А. Воробьев, [и др.]; -М.: -Медицина 1972. -30 с.
2. Эдельсон, Р. Л. Кожа как иммунный орган [Текст] / Р. Л. Эдельсон, Д. М. Финк // Журн. В мире науки. Scientific American. Видавництво російською мовою. -1985.-№8. - С. 22-26.
3. Зими́на, И. В. Кожа как иммунный орган: клеточные элементы и цитокины [Текст] : учеб. пособие / И. В. Зими́на, Ю. М. Лопухин, В. Я. Арион; Иммунология.-1994.-№1. - С.10-15.
4. Кучерявенко, Р.О. Інфекційний ринотрахеїт великої рогатої худоби (епізоотологія, діагностика та специфічна профілактика): Дис. к-та вет.- наук: 16.00.03. / Р.О Кучерявенко; [Ін-т експериментальної і клінічної ветеринарної медицини УААН]. - Х., 2003. - 168 с.
5. Хлыстова, З. С. Участие эпидермиса кожи в системе иммуногенеза человека [Текст] : учеб. пособие / З. С. Хлыстова, И. И. Калинина, В. Х. Хавинсон; Иммунология.-1994. - №3 - С. 25-28.

VACCINE INACTIVATED AGAINST CATTLE INFECTIOUS RHYNOTRACHEITIS FOR INTRACUTANEOUS USING AS ONE OF THE METHODS OF SPECIFIC PROPHYLAXIS OF DISEASE

Malakeyev A.S., Kucheryavenko R.O., Kucheryavenko L.M., Tryzna L.P., Krotov'ska Yu.M.
National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv

Results of laboratory investigations of inactivated vaccine against infectious rhynotracheitis (IRT) of cattle for intracutaneous using which developed in the laboratory of virology of the NSC "IECVM" in comparative analysis with commercial vaccines are presented in the article. There was determined that preparation provides the creation of tense specific immunity to the virus of IRT on the level $7,0-8,6 \log_2$ that has important antiepidemiological meaning in fight with this disease.