

DOI 10.47804/978-5-89904-028-3_2020_137

АДЬЮВАНТЫ ПРИ КОНСТРУИРОВАНИИ ПОЛИВАЛЕНТНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИРУСНЫХ ЭНТЕРИТОВ МОЛОДНЯКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

*¹П.А.Красочко, ¹В.А.Машеро, ¹М.А.Понаськов, ²Н.К.Еремец,
²О.В.Провоторова, ²В.И.Еремец*

¹УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», Витебск, Республика Беларусь
e-mail: krasochko@mail.ru

²ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности» Щелково, Московской обл.
e-mail:vnitibp@mail.ru

Резюме. Цель исследования – подбор оптимальных адьювантов при разработке поливалентной вакцины против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3, респираторно-синцитиальной, рота- и коронавирусной инфекции крупного рогатого скота. Установлено, что при разработке вакцины против вирусных пневмоэнтеритов молодняка крупного рогатого скота, более высокие показатели иммуногенности, отражающие стимулирование гуморального иммунного ответа, были получены при применении масляных депонирующих веществ Монтаниды ИЗА 15 (Montanide, Seppic, Франция) в концентрации 15%.

Summary. The aim of the study is the selection of optimal adjuvants in the development of a polyvalent vaccine against infectious rhinotracheitis, viral diarrhea, parainfluenza-3, respiratory syncytial, rota and coronavirus infection of cattle. It was found that in the development of a vaccine against viral pneumoenterites of young cattle, higher immunogenicity indicators reflecting the stimulation of a humoral immune response were obtained using Montanide 15 ISA oil depositing substances (Montanide, Seppic, France) at a concentration of 15%.

Ключевые слова: вакцина, инфекционный ринорахейт, вирусная диарея, ротавирусы, коронавирусы, парагрипп-3, респираторно-синцитиальный вирус, адьюванты.

Key words: vaccine, infectious rhinoracheitis, viral diarrhea, rotaviruses, coronaviruses, parainfluenza-3, respiratory syncytial virus, adjuvants.

Введение. Вирусные пневмоэнтериты широко распространены в животноводческих хозяйствах Республики Беларусь. Предрасполагающими факторами при их возникновении являются стрессы, нарушение технологии, а основными - возбудители вирусной природы - вирусы – возбудители инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3, респираторно-синцитиальной, рота- и коронавирусной инфекции крупного рогатого скота [11,12].

В современных условиях обязательным компонентом при конструировании поливалентных вакцин являются адъюванты - вспомогательные факторы различного происхождения и различной химической природы, оказывающие неспецифическое стимулирующее действие на иммунный ответ при совместном их применении со специфическими антигенами или, другими словами, вещества, повышающие иммунный потенциал вакцин [2, 5, 6, 13].

Иммуногенность вакцин зависит не только от количества и качества антигена, способа применения и технологии изготовления препарата, но и от правильного выбора неспецифических стимуляторов иммуногенеза – адъювантов.

Преимущества использования адъювантов в композициях вакцин включают их способность: направлять и оптимизировать иммунный ответ, ускорять опосредованные клетками реакции, усиливать иммуногенные свойства слабых иммунных компонентов, совершенствовать качество вакцин и их эффективность в тех случаях, когда иммунные ответы реципиентов ослаблены [4,7].

Поливалентные вакцины на основе масляных адъювантов широко используются для профилактики ряда инфекционных болезней животных уже долгое время. Эти адъюванты способствуют формированию напряженного и продолжительного иммунитета. Современные эмульсионные вакцины представляют собой иммунобиологические препараты, содержащие в большой концентрации цельные вирусы или бактерии в комбинации с масляным адъювантом, в большинстве случаев формирующим эмульсию обратного типа («вода-масло») [3].

Механизм их действия заключается в эмульгировании антигена в масляную оболочку путем образования «эмульсионного шарика».

Для усиления иммунного ответа антиген должен находиться внутри капель воды, диспергированных в липидной фазе. Эмульсии освобождают антиген в течение более длительного времени, чем сорбированные вакцины, что может объяснить более напряженный и длительный иммунитет организма на вводимый антигенный компонент [1].

Выбор адъювантов для вакцины должен быть основан на анализе потенциального преимущества адъюванта для усиления иммуногенности вакцины, соотношенного с риском индицирования местных и системных реакций [10].

Цель исследования – подбор оптимальных адъювантов при конструировании поливалентной вакцины против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3, респираторно-синцитиальной, рота- и коронавирусной инфекции крупного рогатого скота.

Материалы и методы исследований. Исследования по подбору оптимальных адъювантов при конструировании поливалентной вакцины проводились в условиях научной лаборатории кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины», ОАО «БелВитунифарм».

При конструировании опытной поливалентной вакцины были выбраны штаммы возбудителей инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3, респираторно-синцитиальной, рота- и коронавирусной инфекции крупного рогатого скота, которые наиболее соответствовали эпизоотологической ситуации в республике.

При конструировании опытной поливалентной вакцины использовали 2 вида масляных адъювантов – Монтаниды ИЗА 15 и ИЗА 25 (Montanide, Seppic, Франция). Адъювант ИЗА 15 использован в количестве 15%, а ИЗА 25 – 25% от количества антигена.

Для изучения иммунного ответа у лабораторных животных использовали беспородных морских свинок обоего пола массой 250–300 г. По принципу групп-аналогов было сформировано три группы морских свинок, по 10 животных в каждой.

Лабораторные животные содержались в соответствии с действующими «Санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (ви-

вариет» при температуре 19–24, °С, относительной влажности воздуха 50–70%, при естественном освещении [8, 9].

Во время эксперимента их размещали в отдельных одноярусных клетках с верхней стенкой из проволочной сетки, снабженных поилками. Наблюдения за животными опытных групп проводили ежедневно, учитывали их внешний вид, общее состояние, двигательная активность, состояние шерстного покрова и видимых слизистых оболочек, реакцию на внешние раздражители, поедаемость корма, отношение к воде, подвижность и ритм дыхания, выживаемость.

Все лабораторные животные содержались в одинаковых условиях, со свободным доступом к корму и воде. Перед началом исследований все животные в течение трёх суток были выдержаны с целью адаптации в клетке. За время адаптации ежедневно учитывалось общее состояние, реакция на внешние раздражители, прием корма и воды. Морским свинкам первой опытной группы вводили внутримышечно во внутреннюю поверхность бедра двукратно, с интервалом в 14 дней образцы опытной поливалентной вакцины с адьювантом ИЗА 15 в объёме 0,5 см³, второй – образцы опытной поливалентной вакцины с адьювантом ИЗА 25. Животным контрольной группы вводили плацебо.

При изготовлении экспериментальных образцов поливалентных вакцин применяли инактивированные авирулентные вакцинные штаммы вирусов: инфекционного ринотрахеита КМИЭВ-V123 (титр вируса не менее 7,0 lg ТЦД50/мл), вирусной диареи КМИЭВ-V120 (титр вируса не менее 7,5 lg ТЦД50/мл), парагриппа-3 КМИЭВ-V124 (титр вируса не менее 6,5 lg ТЦД50/мл), ротавирус КМИЭВ-V116 (титр вируса не менее 7,5 lg ТЦД50/мл), коронавирусу КМИЭВ-V112 (титр вируса не менее 6,0 lg ТЦД50/мл), а для РС-вирусов не менее 4,8 lg ТЦД50/мл.

У морских свинок была отобрана сыворотка крови для серологических исследований до введения вакцины с различными адьювантами и через 21 день после повторной вакцинации. Титр противовирусных антител определяли в РНГА.

Статистическую обработку проводили с использованием персонального компьютера и программы Excel.

Результаты исследований. При введении морским свинкам поливалентной вакцины с разными адьювантами, во всех опытных группах установлен прирост специфических антител к используе-

мым вакцинным антигенам. Животные всех групп во время опыта были клинически здоровы, охотно поедали корм в обычном количестве, сохраняли нормальную координацию движений, демонстрировали нормальные реакции на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители, имели здоровый внешний вид – ровный гладкий блестящий шерстный покров.

Результаты опыта по подбору оптимальных адъювантов при конструировании поливалентной вакцины на морских свинках, которым вводили экспериментальный образец поливалентной вакцины против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3, респираторно-синцитиальной, рота- и коронавирусной инфекции крупного рогатого скота отображены на рисунке.

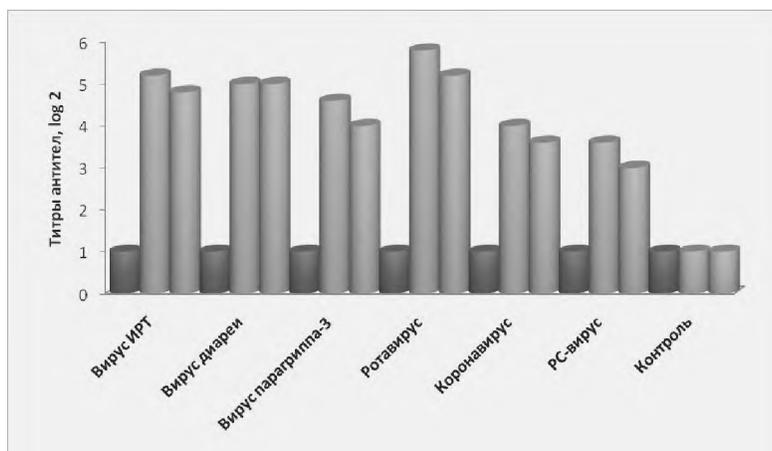


Рис. Титры антител у животных при введении вакцины против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3, респираторно-синцитиальной, рота- и коронавирусной инфекции с различными адъювантами.

При применении масляного адъюванта ИЗА-15, получено повышение уровня титра антител в сыворотках крови морских свинок к вирусу инфекционного ринотрахеита до значения $5,2 \pm 0,2 \log_2$, к вирусу диареи - $5,6 \pm 0,3 \log_2$, вирусу парагриппа-3 – $4,6 \pm 0,3 \log_2$, ротавирусу - $5,8 \pm 0,3 \log_2$, коронавирусу – $4,0 \pm 0,3 \log_2$, вирусу респираторно-синцитиальной инфекции – $3,6 \pm 0,3 \log_2$.

При использовании масляного адъюванта ИЗА-25 получен результат в значении $4,8 \pm 0,2 \log_2$ к вирусу инфекционного ринотрахеита, $5,0 \pm 0,3 \log_2$ - вирусу диареи, $4,0 \pm 0,3 \log_2$ вирусу парагриппа-

3, 5,2 \pm 0,3 log₂ ротавируса, 3,6 \pm 0,3 log₂ коронавируса, 3,0 \pm 0,3 log₂ вируса респираторно-синцитиальной инфекции.

Выводы. На основании анализа полученных результатов при проведении серологических исследований сывороток крови морских свинок, иммунизированных экспериментальными образцами поливалентной вакциной против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3, респираторно-синцитиальной, рота- и коронавирусной инфекции, установлено, что все испытуемые депонирующие вещества оказывают положительное влияние на синтез специфических антител.

При подборе оптимального адьюванта при изготовлении конструируемой вакцины против пневмоэнтеритов инфекционной этиологии молодняка крупного рогатого скота, более высокие показатели иммуногенности, отражающие стимулирование гуморального иммунного ответа, были получены при применении масляных депонирующих веществ Монтаниды ИЗА 15 (Montanide, Seppic, Франция) в концентрации 15%.

Литература

1. Красочко П.А. и др. Адьюванты при конструировании ассоциированных вакцин против инфекционных энтеритов молодняка крупного рогатого скота //Ветеринарна біотехнологія. – 2019. – № 35. – С. 90–99.
2. Красочко П.А. и др. Влияние различных адьювантов на иммунный ответ у животных после вакцинации вирусными и вирусно-бактериальными вакцинами: мат. XIII межд. научн.-практ. конф. «Современные технологии сельскохозяйственного производства». Гродненский государственный аграрный университет. – Гродно, 2010. – Т. 2: Зоотехния. Ветеринария. Технология хранения и переработки. Общественные науки. – С. 199–200.
3. Красочко П.А. Современные подходы к классификации иммуномодуляторов. Эпизоотология, иммунология, фармакология и санитария. - 2006. - № 2. - С. 35–40.
4. Зайцев В.В., Дремач Г.Э., Зайцева А.В. Влияние разных адьювантов на иммуногенность колибактериозных антигенов //Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной медицины»: научно-практический журнал. – Витебск, 2015. – Т. 51, вып. 2. – С. 31–35.
5. Исаенко Е.Ю. и др. Адьюванты в современной вакцинологии //Annals of Mechnikov Institute. – 2013. – № 4. – С. 5–15.
6. Красочко П.А., Красочко И.А., Высокоморная О.В. Взаимосвязь уровня антител и морфологических изменений тканей животных при использовании вакцин с различными минеральными адьювантами //Тр. Всеросс. научн.-иссл. ин-т эксперим. ветеринарии им. Я.Р. Коваленко. – Москва, 2013. – Т. 77. – С. 76–83.
7. Красочко П.А., Красочко И.А., Высокоморная О.В. Оценка морфологических изменений тканей животных при введении вакцин с масляными адьювантами //Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»: научно-практический журнал. – Витебск, 2012. – Т. 48, вып. 2, ч. 1. – С. 88–94.

8. Правила проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза: постановление Совета Евразийской экономической комиссии, 3 ноября 2016 г. № 89 // Эталон – Беларусь [Электронный ресурс] / Национальный центр правовой информации Республики Беларусь. – Минск, 2020.

9. Устройство, оборудование и содержание экспериментально-биологических клиник (вивариев): постановление Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь, 31 октября 2006. № 131 //Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь. – 2012. – 8/25189.

10. Scherlie R. Delivery of antigens used for vaccination: recent advances and challenges //Regina Scherlie //Therapeutic Delivery. – 2012. – Vol.2, № 10. – P.1351–1368.

11. Красочко П.А., Красочко И.А. Диагностика, профилактика и терапия респираторных желудочно-кишечных заболеваний молодняка //Сб.: Проблемы патологии, санитарии и бесплодия в животноводстве. Мат. Межд. научно-практ. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения Х.С. Горегляда и М.К. Юсковца, Минск, 10-11 декабря 1998 г., РК ООО "ПолиБиг", 1998 - С. 15-18.

12. Красочко П.А. и др. Ветеринарные и технологические мероприятия при содержании крупного рогатого скота: монография. /Под общ. ред. П.А.Красочко. - Смоленск: «Универсум», 2016. - 508 с.

13. Красочко П.А. Современные подходы к классификации иммуномодуляторов. Эпизоотология, иммунобиология, фармакология и санитария. - 2006. -№ 2. - С. 35-40.

DOI 10.47804/978-5-89904-028-3_2020_143

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА АТТЕСТАЦИИ И ПАСПОРТИЗАЦИИ ПЕРЕВИВАЕМЫХ ЛИНИЙ КЛЕТОК ТРАДИЦИОННЫМИ МЕТОДАМИ И ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИЕЙ

*В.Т. Ночевный¹, С.В. Хайдуков², Б.Л. Манин³, Т.В. Ночевная⁴,
И.Н. Матвеева⁵*

¹ ФГБУ «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ»);

² Институт биохимии имени А.Н. Баха РАН (ИНБИ РАН);

³ ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных»;

⁴ ФГУП "Научно-производственное объединение по медицинским иммуно-биологическим препаратам «Микроген» "МИКРОГЕН" Министерства Здравоохранения РФ (ФГУП НПО «Микроген» Минздрава РФ);

⁵ ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности» (ФГБНУ «ВНИТИБП»)

Резюме. В работе представлены результаты сравнительной оценки методов сертификации и паспортизации перевиваемых линий клеток традиционным методом, прочной цитометрией и анали-