

Выводы.

1. Установлено, что изученные образцы вакцины против сибирской язвы (в том числе с содержанием наночастиц золота) были безвредными для лабораторных и сельскохозяйственных животных.

2. Вакцинация обеспечивала защиту лабораторных животных от контрольного заражения *V. anthracis* М-71 в дозе 100 МЛД и индуцировало достоверное повышение уровня антител у сельскохозяйственных животных.

Литература

1. Ипатенко Н.Г., Гарилов В.А., Зелепукин В.С. Сибирская язва. - М.: Колос, 1996. – 335 с.
2. Колесов С.Г. Сибирская язва. - М.: Колос, 1976. –287 с.
3. Справочник по лабораторным методам исследования /Под ред. Л.А. Даниловой. - М.-ПИТЕР., 2003. –733 с.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОЙ ИММУНИЗИРУЮЩЕЙ ДОЗЫ МОНОКОМПОНЕНТОВ ПРИ СОЗДАНИИ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ КОЛИБАКТЕРИОЗА И КЛЕБСИЕЛЛЕЗА ТЕЛЯТ

¹ П.П.Красочко, ¹ Я.П.Яромчик, ² Ю.В.Ломако

¹Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины, Витебск, Республика Беларусь
e-mail: 7696695@gmail.com;

²Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского, Минск, Республика Беларусь
e-mail: lamakajuri@tut.by

Поражение желудочно-кишечного тракта молодняка крупного рогатого скота бактериальной этиологии имеет значительное распространение в хозяйствах Республики Беларусь. Основными патогенами при этих болезнях являются сальмонеллы, эшерихии и клебсиеллы. Наиболее эффективным способом профилактики данных болезней является вакцинация животных. Одним из этапов работы при конструировании вакцины является определение оптимальной иммунизирующей дозы каждого монокомпонента, т.к. его недостаток приведет к недостаточной иммуногенности вакцины, а избыток приводит к перерасходу материалов и реактивов при изготовлении вакцины.

Материалы и методы. На предварительном этапе разработки вакцины нами был определен спектр штаммов эшерихий и клебсиелл, которые несут наиболее распространенные в хозяйствах страны антигены. Для изготовления вакцины использовались штаммы: *Escherichia coli* K88, *E. coli* K99, *E. coli* F41, *E. coli* A20, *Klebsiella pneumoniae*.

Работа проводилась в условиях лаборатории диагностики РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», НИИ ПВМБ УО ВГАВМ, а также в СПК «Ставокский» Пинского района Брестской области.

Штаммы бактерий культивировали 24 часа на агаровой питательной среде, бактериальные клетки смывали стерильным 0,85% раствором натрия хлорида и доводили концентрацию бактерий до 5,0 млрд. микробных клеток в 1 см³.

Инактивацию бактерий проводили теотропином в концентрации 0,2% в течение 24 часов.

В качестве адьюванта использовали ИЗА-15.

Из каждого штамма бактерий было изготовлено по 3 экспериментальных образца вакцины с концентрацией клеток 0,5, - 1,0- и 1,5 млрд. микробных тел в см³.

Для отработки оптимальной иммунизирующей дозы монокомпонентов вакцины был проведен опыт в условиях СПК «Ставокский» Пинского района Брестской области. Сформировано 15 опытных групп сухостойных коров и одна контрольная по 5 голов в каждой в соответствии со схемой опыта (см.табл. 1). Каждая группа животных обрабатывалась соответствующим антигеном по 2 см³ внутримышечно двукратно с интервалом 14 дней. Отбор крови осуществляли в начале опыта на 14 и 30 день опыта.

Результаты и обсуждение Определение титра антител в сыворотке крови проводили в РА. Результаты опыта представлены в таблицах 2-6.

Как видно из таблицы 2, наилучшим иммунным ответом обладает вакцина, содержащая 1,5 млрд. микробных клеток в иммунизирующей дозе. Но

при этом, среднее значение титра всего на $0,1 \log_2$ выше по сравнению с вакциной, содержащей 1,0 млрд. микробных клеток в иммунизирующей дозе. Таким образом, увеличение концентрации антигена *E. coli K88* свыше 1,0 млрд. микробных клеток в см^3 не приводит к существенному увеличению титра специфических антител. Поэтому при конструировании вакцины целесообразно использовать 1,0 млрд. микробных клеток *E. coli K88* в см^3 .

В случае антигена *E. coli K99* наилучший иммунный ответ наблюдается при введении антигена в концентрации 1 млрд. микробных клеток в см^3 . Увеличение концентрации антигена приводит к снижению интенсивности синтеза специфических антител. При учете статистического анализа данных таблицы 3, можно сделать вывод, что иммунный ответ при концентрациях 0,5 и 1,0 млрд. микробных клеток в см^3 имеет не существенное различие, что делает возможным использование антигенного материала (*E. coli K99*) в более низкой концентрации.

В случае штамма *E. coli F41* наиболее активно синтезировались специфические антитела после введения инактивированных бактерий в концентрации 1,5 млрд. микробных клеток в см^3 . Однако следует учитывать, что изначально у этой опытной группы значение титров фона (день 1) было значительно выше ($\sim 2-3,2 \log_2$) по сравнению с двумя другими группами. При этом прирост титра антител после однократной иммунизации у групп №7 и №9 ниже по сравнению с группой №8: $4,0 \log_2$, $4,4 \log_2$ и $6,0 \log_2$ соответственно. Таким образом, для штамма *E. coli F41* оптимальной концентрацией является 1,0 млрд. микробных клеток в см^3 . Аналогично предыдущему антигенному варианту штамм *E. coli A20* проявляет сходную зависимость выработки антител от концентрации антигена. Прирост титра антител после однократной иммунизации составил $4,2$ -, $3,6$ - и $1,6 \log_2$ соответственно для концентраций $0,5$ -, $1,0$ - и $1,5$ млрд. микробных клеток в см^3 . В связи с этим, введение $0,5$ млрд. микробных клеток *E. coli A20* вызывает наилучший иммунный ответ.

Таблица 1
 Схема опыта по отработке оптимальной иммунизирующей дозы монокомпонентов вакцины против
 клебсиеллеза и эшерихиоза

Антиген	<i>E. coli</i> K88			<i>E. coli</i> K99			<i>E. coli</i> F41			<i>E. coli</i> A20			<i>Kl. pneumoniae</i>			Контроль
Концентрация, млрд. бакт. клеток	0.5	1	1.5	0.5	1	1.5	0.5	1	1.5	0.5	1	1.5	0.5	1	1.5	-
Номер группы	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16

Таблица 2
 Титры антител в сыворотке коров, иммунизированных *E. coli* K88 (\log_2)

№ п/п	Концентрация бактерий, млрд. микробных клеток в см ³ (номер группы)									Контроль		
	0,5 (№1)			1 (№2)			1,5 (№3)			1 день	14 день	30 день
	1 день	14 день	30 день	1 день	14 день	30 день	1 день	14 день	30 день			
1	10	16	-	11	13	10	7	13	11	7	8	7
2	7	10	9	9	13	11	8	12	6	5	6	7
3	9	13	8	10	11	12	4	-	12	7	7	8
4	8	9	14	6	13	11	10	13	12	8	7	7
5	9	12	10	8	12	9	8	12	10	8	8	7
Среднее значение	8,6± 0,51	12± 1,22	10,3± 1,31	8,8± 0,86	12,4 ±0,4	10,6± 0,5	7,4± 0,98	12,5± 0,29	10,2± 1,11	7± 0,55	7,2± 0,37	7,2± 0,2

*P<0,05

Таблица 3

Титры антител в сыворотке коров, иммунизированных *E. coli* K99 (\log_2)

№ п/п	Концентрация бактерий, млрд. микробных клеток в см ³ (номер группы)									Контроль		
	0.5 (№4)			1 (№5)			1.5 (№6)			1 день	14 день	30 день
	1 день	14 день	30 день	1 день	14 день	30 день	1 день	14 день	30 день			
1	10	14	13	6	15	14	8	14	14	6	7	7
2	8	16	12	6	10	15	8	14	12	4	5	5
3	9	10	15	6	10	16	12	16	11	7	6	7
4	8	14	15	7	11	14	9	13	9	7	7	8
5	11	-	16	6	11	15	8	13	-	8	8	8
Среднее значение	9,2± 0,58	13,5± ,26	14,2± ,73	6,2± 0,2	11,4± ,93	14,8±0,37	9± 0,77	14± 0,55	11,5± ,04	6,4± 0,68	6,6± 0,51	7± 0,55

*P<0,05

342

Таблица 4

Титры антител в сыворотке коров, иммунизированных *E. coli* F41 (\log_2)

№ п/п	Концентрация бактерий, млрд. микробных клеток в см ³ (номер группы)									Контроль		
	0.5 (№7)			1 (№8)			1.5 (№9)			1 день	14 день	30 день
	1 день	14 день	30 день	1 день	14 день	30 день	1 день	14 день	30 день			
1	7	10	7	3	13	9	11	14	12	9	9	8
2	6	10	9	10	13	9	11	13	11	7	8	8
3	6	12	-	6	15	8	9	13	11	8	7	6
4	7	12	10	6	8	8	7	15	12	6	7	7
5	10	12	8	5	11	-	8	13	11	8	8	7
Среднее значение	7,2± 0,73	11,2± ,49	8,5± 0,65	6± 1,14	12± 1,18	8,5± 0,29	9,2± 0,8	13,6± 0,4	11,4±0,24	7,6± 0,51	7,8± 0,37	7,2± 0,37

*P<0,05

Титры антител в сыворотке
низированных *E. coli* A20 (log₂)

Таблица 5

№ п/п	Концентрация бактерий, млрд. микробных клеток в см ³ (номер группы)									Контроль		
	0.5 (№10)			1 (№11)			1.5 (№12)					
	1 день	14 день	30 день	1 день	14 день	30 день	1 день	14 день	30 день	1 день	14 день	30 день
1	10	14	8	6	8	5	9	10	5	7	7	7
2	5	11	10	7	14	9	14	11	8	10	9	9
3	11	11	12	8	11	-	10	14	9	8	8	9
4	3	8	6	12	12	11	8	12	10	6	6	7
5	6	12	11	7	13	9	8	10	-	8	7	7
Среднее значение	7± 1,52	11,2±0,97	9,4±1,08	8± 1,05	11,6±1,03	8,5± ,26	9,8±1,11	11,4±0,75	8± 1,08	7,8±0,66	7,4±0,51	7,8±0,49

*P<0,05

Титры антител в сыворотке коров, иммунизированных *Kl.pneumoniae* (log₂)

Таблица 6

№ п/п	Концентрация бактерий, млрд. микробных клеток в см ³ (номер группы)									Контроль		
	0.5 (№13)			1 (№14)			1.5 (№15)					
	1 день	14 день	30 день	1 день	14 день	30 день	1 день	14 день	30 день	1 день	14 день	30 день
1	11	13	9	6	15	-	9	13	8	7	8	7
2	7	12	9	7	10	7	9	14	9	9	8	8
3	8	13	10	8	10	8	9	12	9	8	7	8
4	8	13	11	10	12	9	10	10	-	7	8	8
5	7	-	10	6	10	9	9	13	9	8	8	9
Среднее значение	8,2±0,73	12,8±0,25	9,8±0,37	7,4±0,75	11,4±0,98	8,25±0,48	9,2± 0,2	12,4±0,68	8,75±0,25	7,8±0,37	7,8±0,20	8± 0,32

*P<0,05

В случае *Kl.pneumoniae* наилучшей эффективностью обладала концентрация 0,5 млрд. микробных клеток, которая повышала титр антител на $4,6 \log_2$, что на 0,6 и $1,4 \log_2$ выше по сравнению с группами №13 и №15 соответственно.

Таким образом, иммунизация коров антигенами *E. coli* (K88, K99, F41, A20) и *Kl.pneumoniae* в различной концентрации привела к росту титра антител по сравнению с фоновым на 14 день исследования с последующим снижением к 30 дню. Независимо от концентрации бактериальных клеток и типа антигена отмечался схожий рост титра во всех группах.

На основании полученных данных планируется использовать в вакцине указанные антигены в концентрации от 0,5 до 1,0 млрд/см³ в зависимости от индивидуальной иммуногенности антигена. Меньшая концентрация выбрана и потому, что в условиях хозяйств у животных наблюдается высокий уровень фоновых антител, поэтому высокая антигенная нагрузка нежелательна.

ОПТИМИЗАЦИЯ ПЕРИОДИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА КУЛЬТИВИРОВАНИЯ БАКТЕРИЙ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ ВАКЦИН

А.А.Раевский

Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт
биологической промышленности, Щелково, Московской обл.

e-mail: raevskyaa@mail.ru

Одним из наиболее значимых технологических этапов в производстве биологических препаратов, предназначенных для специфической профилактики инфекционных заболеваний бактериальной этиологии, является культивирование микроорганизмов. Именно на этой технологической стадии производства вакцин происходит синтез антигенов, от которых зависит эффективность иммунных препаратов. В процессе выращивания микроорга-