

**І.І. Головащук**

м.н.с.

**А.О. Головащук**

м.н.с.

Національний науковий центр “Інститут експериментальної та клінічної ветеринарної медицини” УААН, м. Харків

## **ВИЗНАЧЕННЯ ІМУНОГЕННОЇ АКТИВНОСТІ СИРОВАТКИ АНТИТОКСИЧНОЇ ПРОТИ ПАСТЕРЕЛЬОЗУ КРОЛІВ**

*Виготовлені дослідні лабораторні мікросерії гіперімунної антитоксичної сироватки були стерильні та нешкідливі для лабораторних тварин. Сироватка містить антитіла до трьох сероварів збудника пастерельозу: P. multocida A, B, D та їх екзотоксинів.*

### **Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень**

Створені людиною штучні умови існування тварин далекі від природних, що еволюційно впливають на прояв всіх життєвих функцій, в

---

© І.І. Головащук, А.О. Головащук

т. ч. і народження життєздатного приплоду. Сильно впливають на організм тварин несприятливі екологічні умови існування, технологічні й виробничі порушення, численні стреси, надмірна експлуатація тощо. Концентрація великої кількості тварин на обмежених територіях і тривале використання тваринницьких приміщень без санації та регулярної дезінфекції викликають їх мікробну "утому". Хвороботворні мікроорганізми, а іноді й банальні (звичайні, широко розповсюджені в природі) у результаті численних пасажів через організм сприйнятливих тварин (часто ослаблених і схильних до хвороб, які утримуються з технологічними порушеннями) підсилюють свою вірулентність. Цьому сприяє стан імунodefіциту тварин через глибокі порушення обміну речовин і недостатні імунoproфілактичні й імунотерапевтичні заходи – проведення вакцинацій та обробки сироватками. Серед такої мікрофлори значне місце посідає – пастерела (*P. multocida*) [1, 5].

Пастерельоз – інфекційна хвороба, що характеризується септицемією й запально-геморагічними процесами у внутрішніх органах, на серозних і слизових оболонках.

Пастерельоз характеризується широким розповсюдженням. Тому хвороба в господарствах може виникнути й без занесення збудника ззовні, досить деякого ослаблення опірності організму. Схильність кролів до хвороб може бути наслідком неправильної та незадовільної годівлі, відсутності вітамінів, ураження гельмінтами тощо. У приміщенні інфекція поширюється через повітря, воду й корм, через клітки та інвентар. Хворі й перехворілі тварини виділяють збудника із сечею, калом й слиною. Крім кролів, на цю інфекцію хворіють також багато гризунів, свині, вівці, велика рогата худоба, голуби та інші птахи. Зараження кролів частіше відбувається через органи дихання. Проникають пастерели в організм через ушкоджену шкіру й слизові оболонки. Летальність серед тварин при цьому захворюванні може сягати 80 %. З метою створення препарату для специфічної імунoproфілактики та імунотерапії кролів проти пастерельозу нами була розроблена гіперімунна сироватка [1, 4, 5].

### **Матеріали й методи**

Дослідження гіперімунної сироватки проводились в умовах лабораторії вивчення хвороб молодняка Національного наукового центру "Інститут експериментальної та клінічної ветеринарної медицини" УААН під керівництвом завідувача лабораторії доктора ветеринарних наук В.Ю. Кассіча згідно з наказом директора ННЦ ІЕКВМ УААН та рішенням методичної комісії ННЦ ІЕКВМ УААН. Для роботи були використані три мікросерії сироватки та три штами *P. multocida* сероварів А, В, Д, які зареєстровані в ННЦ ІЕКВМ УААН. Штами культивували на рідкому

середовищі Хоттінгера. В усіх дослідженнях використовували добові бульйонні культури пастерел. Сироватку досліджували згідно з вимогами ТУ У 24.4-00497087-037:2006, інструкцією та ГОСТами (ГОСТ 28085, ГСТУ 46.024-2002).

Відповідно до вказаної вище нормативної документації досліджували такі показники:

- визначення зовнішнього вигляду;
- визначення стерильності;
- визначення нешкідливості: визначення токсичності, визначення анафілактогенності;
- визначення імуногенної активності;

### **Результати дослідження**

*Визначення зовнішнього вигляду.* Відбрали середню пробу з трьох мікросерій сироватки. Сироватка являє собою прозору опалесцюючу рідину червоно-коричневого кольору з незначним білуватим осадом, який після струшування рівномірно розбивався у гомогенну суміш. Порушень герметичності флаконів, наявності сторонніх домішок, пластівців, що не розбиваються, плісняви не виявлено.

*Визначення стерильності.* Середню пробу сироватки та кожну мікросерію окремо висівали на МПБ, МПА, МПЖ, щільне середовище Сабуро, МППБ (середовище Кігга-Тароцці); пробірки з висівами інкубували у термостаті при температурі +37 °С протягом 24–48 годин, а середовища для культивування грибів витримували 10–12 діб при кімнатній температурі. На всіх поживних середовищах ріст сторонньої мікрофлори був відсутній.

*Визначення нешкідливості та токсичності.* Середню пробу сироватки кожної мікросерії окремо вводили підшкірно в ділянці спини 30-ти білим мишам (вагою до 20 г) у дозі, відповідній до вимог ГОСТу, та 30-ти морським свинкам вагою 240–260 г. Всі дослідні тварини протягом 10 діб залишалися живими.

*Визначення анафілактогенності* проводили в дослідах на морських свинках вагою 200–250 г кожна, яким вводили трикратно сироватку крові за такою схемою: перше введення підшкірно у дозі 0,125 см<sup>3</sup> з інтервалом в 1 добу, два наступні – внутрішньом'язово у дозі 0,125 см<sup>3</sup>. Дози сироватки антиоксичної проти пастерельозу кролів, які вводили морським свинкам, були розраховані відповідно до вимог НТД. Анафілактичної реакції на введення сироватки у тварин не спостерігали.

*Визначення імуногенної активності.* Для оцінки імуногенних властивостей було сформовано шість груп (три дослідні n = 30 та три контрольні n = 30) білих мишей вагою 18–20 г та шість груп кролів (n = 18)

живою вагою 1–1,2 кг (три дослідні  $n = 9$  та три контрольні  $n = 9$ ). Дослідних мишей після введення сироватки (підшкірно в дозі  $0,4 \text{ см}^3$ ) через добу заражали окремо летальними дозами таких попередньо відтитрованих бульйонних культур: *P. multocida* А № 5 ( $3 \text{ LD}_{50}$ ), *P. multocida* В № 37 ( $3 \text{ LD}_{50}$ ), *P. multocida* D № 12 ( $3 \text{ LD}_{50}$ ). Дослідних кролів після введення сироватки через добу заражали окремо летальними дозами таких попередньо відтитрованих бульйонних культур: *P. multocida* А № 5 ( $5 \text{ LD}_{50}$ ), *P. multocida* В № 37 ( $5 \text{ LD}_{50}$ ), *P. multocida* D № 12 ( $5 \text{ LD}_{50}$ ). Мишам контрольної групи вводили бульйонні культури *P. multocida* А № 5 ( $3 \text{ LD}_{50}$ ), *P. multocida* В № 37 ( $3 \text{ LD}_{50}$ ), *P. multocida* D № 12 ( $3 \text{ LD}_{50}$ ). Кролів та мишей контрольних груп заражали тими ж бульйонними культурами у таких же дозах. Спостереження за зараженими тваринами вели протягом 10 діб. При цьому встановили, що загибель мишей контрольної групи, яким вводили штам *P. multocida* А № 5, відбулась у першу (8 голів) та другу (2 голови) добу. Від штаму *P. multocida* В № 37 усі миші контрольної групи загинули на першу добу. Від штаму *P. multocida* D № 12 миші контрольної групи загинули на першу (7 голів) та другу (3 голови) добу. При спостереженні за кролями контрольних груп встановили, що від штаму *P. multocida* А № 5 та штаму *P. multocida* В № 37 100 % загибель кролів контрольних груп відбулась на першу добу, а від штаму *P. multocida* D № 12 – на другу. Імуногенну активність препарату оцінювали за показником збереженості імунізованих мишей (табл. 1) та кролів (табл. 2) [2, 3].

Отриманий патент на спосіб одержання сироватки.

Таблиця 1. Результати перевірки протективної активності гіперімумної сироватки на білих мишах

Результати зараження Штами	Кількість загиблих тварин по групах										% тварин, які не загинули
	доба										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
<i>P. multocida</i> А № 5, $n = 10$	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	80
Контроль, $n = 10$	8	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. multocida</i> В № 37, $n = 10$	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	70
Контроль, $n = 10$	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. multocida</i> D № 12, $n = 10$	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	80
Контроль, $n = 10$	7	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Таблиця 2. Результати перевірки протективної активності гіперімунної сироватки на кролях

Результати зараження Штами	Кількість загиблих тварин по групах										% тварин, які не загинули
	доба										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
P. multocida A № 5, n = 3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	66,7
Контроль, n = 3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P. multocida B № 37, n = 3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	66,7
Контроль, n = 3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P. multocida D № 12, n = 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
Контроль, n = 3	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0

### Висновки

1. Виготовлені дослідні лабораторні мікросерії гіперімунною сироватки стерильні та нешкідливі для лабораторних тварин. Сироватка містить антитіла до трьох сероварів збудника пастерельозу: P. multocida A № 5, P. multocida B № 37, P. multocida D № 12 та їх екзотоксинів.

2. Протективні властивості в дослідях на лабораторних тваринах відповідають вимогам нормативно-технічної документації.

3. При застосуванні сироватки на мишах та кролях створюється стан несприятливості до зараження летальними дозами вказаних вище збудників пастерельозу у 76 % мишей та 77,8 % кролів.

### Перспективи подальших досліджень

Подальші дослідження слід зосередити на вивчення лікувальної ефективності сироватки при введенні кролям.

### Література

1. Волколунова В.А. Профілактика пастерельозу кролів на великих фермах // Ветеринарія: Респ. міжвід. тематич. наук. зб. – К., 1980. – Вып. 51. – С. 52–55.
2. Пінчук В.А., Волколунова В.А. Вивчення імуногенних властивостей польових штамів пастерел методом біологічного контролю на білих мишах // Ветеринарія: Респ. міжвід. тематич. наук. зб. – К., 1981. – Вып. 54. – С. 51–53.

3. Пинчук В.А., Волколупова В.А., Скибина В.В. Лечение и профилактика пастереллеза кроликов // Кролиководство и звероводство. – 1983. – № 1. – С. 28–29.
4. Рустамов Ю.М. Антигенные, вирулентные и иммуногенные свойства пастерелла мультацида различных серологических вариантов (типов): Автореф. дис...к.вет.н. – М., 1983. – 24 с.
5. Розробка і вдосконалення засобів специфічної профілактики пастерельозу птахів (до 35-річчя заснування Дніпропетровської дослідної станції ІЕКВМ) / П.Цімох, С.Прахова, Є.Демченкота та ін. // Вет. медицина України. – 1997. – № 8. – С. 13.