

УДК 619:616.982.17:636.4

А.Ф. Ображей

к.вет.н., член-кореспондент УААН
Інститут ветеринарної медицини УААН

ІМУНОГЕННА АКТИВНІСТЬ ВАКЦИННИХ ШТАМІВ *ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE* BP-2

*Викладено результати порівняльного вивчення імуногенної активності вакцинних штамів *Erysipelothrix rhusiopathiae* BP-2, що застосовувались для виробництва живих вакцин проти бешихи свиней в різних країнах. Встановлено, що при ідентичних культурально-морфологічних характеристиках ІМД₅₀ штаму BP-2, який застосовувався для виробництва живої вакцини в Польщі, після контрольного зараження мишей *Erysipelothrix rhusiopathiae* 149 складала 2890; такого ж штаму, який застосовувався для виробництва живої вакцини в Болгарії – 294, Чеській Республіці – 169 та в Російській Федерації – 77 мікробних клітин на мишу.*

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень

Бешиха свиней – це одна із найбільш поширених у світі інфекційних хвороб свиней, яка може перебігати у гострій (генералізованій, септичній) або хронічній (нашкірній) формах [1–4] та наносити значні збитки у свинарських господарствах за відсутності у тварин імунітету проти цього захворювання.

Попередження захворювань свиней на бешиху базується на проведенні протиепізоотичних заходів та широкому застосуванні активної імунізації. Для щеплення тварин в Україні, як і в ряді країн світу, застосовують живі та інактивовані вакцини. В загальній кількості імунопрофілактичних заходів, які проводяться у свинарстві, щеплення проти бешихи свиней займає друге місце після вакцинації класичної чуми свиней та складає більше 23 % від усіх щеплень свиней [5].

На підставі зазначеного, якості живих вакцин проти бешихи свиней приділяється особлива увага як при виробництві, так і при застосуванні. Лише використання імуногенних вакцин забезпечує вироблення у тварин імунітету необхідної напруженості та достатньої тривалості [5, 6].

Виробництво живих вакцин у більшості країн базується на використанні атенуйованого штаму *Erysipelothrix rhusiopathiae* BP-2 румунського походження [7] та лише обмежено у деяких країнах колишнього Радянського Союзу – на основі вакцинного штаму другої вакцини Конєва [8], який має значну залишкову вірулентність і використовується тільки на поголів'ї, що щеплене проти бешихи свиней. Якість живих вакцин найбільше залежить від імуногенної активності атенуйованих вакцинних штамів, їхньої імунізуючої дози (кількості живих бактерій), необхідної для введення тварині з метою створення стійкого та напруженого імунітету.

Метою наших досліджень було вивчення культурально-морфологічних характеристик та визначення імунізуючої дози аттенуйованих вакцинних штамів *Erysipelothrix rhusiopathiae* ВР-2, яка забезпечує захист 50 % тварин від контрольного зараження збудником бешихи свиней *Erysipelothrix rhusiopathiae* штамом 149 на білих мишах (ІМД₅₀).

Матеріали і методи досліджень

В роботі використовували чотири штами *Erysipelothrix rhusiopathiae* ВР-2, які застосовувались або застосовуються для виробництва живих вакцин проти бешихи свиней у Російській Федерації, Чеській Республіці, Польщі та Болгарії. З метою вивчення культуральних та морфологічних властивостей всі вакцинні штами висівали на м'ясо-пептонний бульйон Хоттінгера (МПБХ) та м'ясо-пептонний агар Хоттінгера (МПАХ), культивували протягом 24 годин при температурі $36 \pm 0,5$ °С, вивчали характеристику їх росту та проводили мікроскопію пофарбованих за Грамом мазків одно- та тридобових культур.

Перед початком досліджень з вивчення середньоімуногенної активності штамів (ІМД₅₀) визначали вміст живих мікробних клітин у 1 см³ ліофілізованих штамів ВР-2 висіванням на МПАХ їх розведень із десятичним кроком до 1×10^6 та 1×10^7 з наступним підрахунком колоній, що виростили через 24 години культивування.

Erysipelothrix rhusiopathiae штам ВР-2, що використовувався для виробництва живої вакцини проти бешихи свиней в Польщі, розводили в МПАХ та вводили підшкірно в ділянці спини білим мишам масою 18–20 г в кількостях від 339600 до 34 мікробних клітин в 0,2 см²; штам, що використовувався для виробництва живої вакцини в Чеській Республіці, вводили мишам в дозах від 13420 до 13 в об'ємі 0,2 см²; в Болгарії – від 9310 до 47 в 0,2 см², а штам ВР-2, що використовувався для виробництва живих вакцин у Російській Федерації та деяких країнах колишнього Радянського Союзу – в дозах від 11673 до 3 мікробних клітин на одну мишу в 0,2 см². Контрольним тваринам підшкірно вводили по 0,2 см² стерильного МПАХ. У дослідних та контрольних групах спочатку було по 12–14 піддослідних тварин. Через 14 діб з контрольної та усіх дослідних груп відбирали по 10 мишей і підшкірно в області спини заражали патогенними бактеріями попередньо відтитрованого контрольного штаму збудника бешихи свиней 149 в дозі 100 LD₅₀ в об'ємі 0,1 см³. Проводили постійний клінічний огляд стану тварин протягом 14 днів після щеплення та ще впродовж 10 діб після зараження контрольним патогенним штамом *Erysipelothrix rhusiopathiae* 149. Враховували стан мишей після щеплення, а особливо – кількість та час загибелі мишей після зараження.

Розрахунок ІМД₅₀ вакцинних штамів проводили за Кербером у модифікації Ашмарина [9].

Результати досліджень

При дослідженні культуральних властивостей та морфологічних характеристик всіх чотирьох штамів *Erysipelothrix rhusiopathiae* ВР-2, що застосовувались для виробництва живих вакцин проти бешихи свиней у Російській Федерації, Чеській Республіці, Польщі та Болгарії, практично було встановлено їх ідентичність. Всі вони давали характерний ріст при посіві у МПБХ з утворенням через 24 години помутніння у вигляді «муарових хвиль», а через 2–3 доби на дні пробірок спостерігали наявність осаду, який при струшуванні піднімався у вигляді косички. При висіванні всіх штамів на МПАХ через 48 годин культивування при температурі $36\pm 0,5$ °С виявляли дрібні, подібні до росинок колонії з рівними краями, які протягом 72–96 годин поступово збільшувались та набували світло-блакитного забарвлення. В мікроскопічних препаратах із добових бульйонних культур, пофарбованих за Грамом, виявляли лише тонкі, прямі або дещо зігнуті грампозитивні палички, розташовані поодинокі або парно, а в препаратах зі старих культур – у вигляді коротких ланцюжків. Спор та капсул не утворювали. В препаратах «роздавлена крапля» були нерухомими.

Після щеплення мишей чотирма штамми ВР-2 (за походженням – з різних країн) було виявлено дещо збільшену залишкову реактогенність у штамів, що використовувались для виробництва живих вакцин проти бешихи свиней в Російській Федерації та Польщі. Було зареєстровано падіж 5 білих мишей із 60, які були щеплені штамом ВР-2, що використовувався у Російській Федерації, та 9 з 60, які були щеплені штамом ВР-2 з Польщі. При щепленні мишей штамми ВР-2 із Чеської Республіки та Болгарії навіть у великих дозах загибелі мишей протягом 14 днів після щеплення не спостерігали.

При проведенні подальших досліджень на білих мишах встановлено, що імунний захист піддослідних тварин, які були щеплені різними штамми *Erysipelothrix rhusiopathiae* ВР-2, прямо корелятивно залежав від дози (кількості введених живих мікробних клітин). Більш високі дози мікробних клітин штамів ВР-2 забезпечували захист від зараження контрольним патогенним штамом бактерій збудника бешихи свиней 149 у дозі 100 LD₅₀ всіх 100 % піддослідних тварин у групах, а зменшення кількості живих бактерій вакцинних штамів в дозі до 3–47 мікробних клітин призводило до захворювання та загибелі всіх піддослідних тварин. Загибель мишей після введення патогенних бактерій *Erysipelothrix rhusiopathiae* штаму 149 як в контрольній групі, так і в групах тварин, де мала кількість живих мікробних клітин вакцинних штамів ВР-2 не забезпечила вироблення достатньо напруженого імунітету, розпочиналась на 3 добу та закінчувалась через 5 діб після зараження. Впродовж перших 3-х діб після зараження та після 6-ої доби загибелі тварин не реєстрували. Результати порівняльного вивчення імуногенної активності вакцинних штамів

Erysipelothrix rhusiopathiae BP-2, що застосовувались для виробництва живих вакцин проти бешихи свиней в різних країнах, наведені в таблиці 1.

Таблиця 1. Визначення імуногенної активності бактерій *Erysipelothrix rhusiopathiae* штамів BP-2 на білих мишах

№ з/п груп	Кількість живих бактерій штаму BP-2, мікробів у 0,2 см ²	Період загибелі мишей після зараження, доба					Всього загибло мишей з 10 щеплених в групі, голів	Захист від зараження, %
		1	2	3	4	5		
Штам BP-2, що використовувався для виробництва живої вакцини в Польщі								
1	339600						0	100
2	33960				1		1	90
3	3396			2	2		4	60
4	339			4	3	1	8	20
5	170			6	2	1	9	10
6	34			3	6	1	10	0
Штам BP-2, що використовувався для виробництва живої вакцини в Чеській Республіці								
1	13420						0	100
2	1342				1		1	90
3	671			1	1		2	80
4	134			3	2		5	50
5	67			3	5		8	20
6	13			5	3	2	10	0
Штам BP-2, що використовувався для виробництва живої вакцини в Російській Федерації								
1	11673						0	100
2	1167			1			1	90
3	117			1		3	4	60
4	58				1	4	5	50
5	12			2	4	2	8	20
6	3			5	4	1	10	0
Штам BP-2, що використовувався для виробництва живої вакцини в Болгарії								
1	9310						0	100
2	931			2	1		3	70
3	466			1	3		4	60
4	93			4	3		7	30
5	47			1	5	4	10	0
Конт- роль	0			5	4	1	10	0

При підрахунку ІМД₅₀ вакцинних штамів ВР-2, що застосовувались для виробництва живих вакцин проти бешихи свиней в чотирьох країнах, встановлено, що ІМД₅₀ бактерій вакцинного штаму ВР-2 з Польщі складала 2890, з Болгарії – 294, Чеської Республіки – 169 та з Російської Федерації – 77 живих мікробних клітин на мишу.

Висновки

1. Атенуйовані вакцинні штами *Erysipelothrix rhusiopathiae* ВР-2, що використовуються для виробництва живих вакцин у Російській Федерації, Чеській Республіці, Польщі та Болгарії, при ідентичних культурально-морфологічних характеристиках істотно вирізняються за імуногенними властивостями та наявністю залишкової реактогенності.

2. ІМД₅₀ бактерій вакцинного штаму ВР-2 із Польщі після зараження контрольним штамом збудника бешихи свиней 149 в дозі 100 LD₅₀ становить 2890, Болгарії – 294, Чеської Республіки – 169 та Російської Федерації – 77 живих мікробних клітин на мишу. Штами ВР-2, що використовуються для виробництва вакцин в Російській Федерації та Польщі, мають залишкову реактогенність.

Перспективи подальших досліджень

Подальші дослідження слід зосередити в напрямку клонування та підбору достатньо імуногенного атенуйованого вакцинного штаму без залишкової реактогенності з використанням штамів ВР-2, що застосовувались для виробництва живих вакцин у Російській Федерації та Чеській Республіці.

Література

1. Асонов Н.Р. Микробиологія. – М.: Колос, 2001. – 351 с.
2. Cross protection in mice and swine immunized with live erysipelas vaccine to challenge with strains of *Erysipelothrix rhusiopathiae* of various serotypes / T.Takahashi et al. // *Am. J. Vet. Res.* – 1984. – № 45. – Рр. 2115–2118.
3. *Ображей А.Ф.* Вивчення нешкідливості та імуногенності живої сухої вакцини проти бешихи свиней // *Ветеринарна біотехнологія.* – 2006. – № 9. – С. 196–202.
4. Induction of cross-protection in mice against dolphin *Erysipelothrix rhusiopathiae* isolates with a swine commercial vaccine / G.Lacave, E.Cox, J.Hermans, L.Devriese et al // *Vet. Microbiol.* – 2001. – № 80(3). – Рр. 247–253.
5. *Рахманов А.М., Яременко М.А.* Профилактика инфекционных болезней в России // Сб. трудов Международной науч.-практ. конф. – Минск, 2003. – С. 43.

6. Ветеринарні імунобіологічні препарати: Довідник / За заг. ред. П.І. Вербицького, А.М. Головка. – К.: Реферат, 2004. – 400 с.
7. Душук Р.В., Семенов Л.В. Вакцина против рожи свиней из штамма ВР-2 // Наук. вісн. Нац. аграр. ун-ту. – 2001. – № 36. – С. 177–180.
8. Делонированная вакцина против рожи свиней / Р.В. Душук, А.В. Олейник, Л.Тихонов, Л.В. Семенов, О.Б. Сободаха // Вет. медицина. – 2002. – Вип. 80. – С. 220–223.
9. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. – Л., 1962. – С. 34–46.