

АНТИГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ЛИСТЕРИОЗА
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ ИЗ ШТАММА «АУФ»
ЖИВОЙ СУХОЙ «ЛИСТЕКС» С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ В КАЧЕСТВЕ
ИММУНОСТИМУЛЯТОРА БИОПРЕПАРАТА «БИФЕРОН-Б»
ПРОИЗВОДСТВА ООО «НПЦ «ПРОБИОТЕХ»»
(РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ)

Заерко В.И.¹, Абакин С.С.², Потапович М.И.³, Прокулевич В.А.³

¹ФКП «Ставропольская Биофабрика», г. Ставрополь

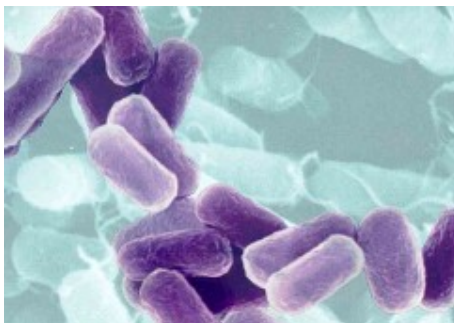
²ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт овцеводства и козоводства», г. Ставрополь

³Белорусский государственный университет, г. Минск

ФКП «Ставропольская биофабрика» на протяжении 20 лет ведет наработку и выпуск вакцины против листериоза сельскохозяйственных животных из штамма «АУФ» живой сухой «Листекс». Вакцина эффективно применяется при эпизоотических вспышках заболевания в осенне-зимний период. Заболевание в основном возникает при изменении рациона кормления, при переходе на силосный сбалансированный корм (силосная болезнь).

Листериоз – острая природно-очаговая зооантропонозная инфекционная болезнь многих видов животных и птиц, характеризующаяся поражением центральной нервной системы, сепсисом, абортами и маститами. Листериозом болеет и человек.

На сегодняшний день листериоз животных широко распространен и зарегистрирован в 47 странах мира. Экономический ущерб, наносимый листериозом, определяется высокой летальностью от этой болезни которая достигает 47%, а при нервных формах болезни может достигать 98-100%, снижением продуктивности животных, абортами, большими средствами, затрачиваемыми на проведение лечебно-профилактических и карантинно-ограничительных мероприятий. Возбудитель болезни — листериамонаоцитогенес (*Listeriamonocytogenes*), полиморфная, не образующая спор и капсул аэробная, мелкая (0,3-0,5 * 0,8-2микрон) бактерия с закругленными концами; встречаются также овоидные, кокковидные формы возбудителя.



Листерии обладают значительной устойчивостью во внешней среде. В почве, навозе, в скотных дворах, возбудитель сохраняет свою жизнеспособность до 11 месяцев, в сене - до 20, в силосе и мясокостной муке - до 4, в овсе - до 9 (при минусовой температуре - до 33 месяцев), в трупах, зарытых в землю — до 4 месяцев, в прудовой воде - до года. Листерии погибают в 5%-ных растворах карболовой кислоты, лизола, креолина и в растворе хлорной извести с 3% активного хлора в течение 10 минут. Пастеризация при 75 градусах убивает листерии за 20 минут, кипячение - за 5 минут.

Эпизоотологические данные: к листериозу восприимчивы по нисходящей - овцы, козы, крупный рогатый скот, свиньи, лошади кролики, куры, гуси, утки, индейки. Болезнь может поражать животных всех возрастов, но особую чувствительность проявляют молодые и беременные животные. К листериозу восприимчив и человек.

Исключительная важность профилактики листериоза подчеркивается зоонозным характером данной болезни и большой опасностью, которую она представляет для людей.

Материалы и методы. Работа проведена в ФКП "Ставропольская Биофабрика", лаборатории инфекционных, незаразных болезней и паразитарных болезней (ФГБНУ ВНИИОК). Объектом исследования служили крупный рогатый скот, морские свинки, сыворотка крови.

Эффективность вакцинации животных зависит от определения количественным методом вакцинирующей дозы препарата. Метод основан на высевах вакцины в чашки Петри с агаром Хоттингера с добавлением стимуляторов роста в виде глюкозы, альбумина, гидролизата дрожжей. После двухсуточного культивирования проводится подсчет выросших колоний и определяется концентрация микробных клеток в 1 см³ вакцины. Исходя из концентрации, определяется иммунизирующая доза.

Учитывая, что после сублимационной сушки вакцинный штамм *Listeria monocytogenes* находится в состоянии анабиоза, очень важным моментом для достоверного определения живых бактерий в сублимированном продукте являются элективные свойства плотной питательной среды в чашках Петри. Поэтому питательная среда должна обладать высокими ростовыми свойствами для вакцинного штамма листерий для полного определения всех живых форм после сушки. Этот показатель способствует снижению антигенной нагрузки за счет исключения нежизнеспособных микроорганизмов в вакцинирующей дозе биопрепарата. Для определения живых листерий штамма «АУФ» после сублимационной сушки используется метод кратных разведений вакцины физиологическим раствором с посевом каждого разведения на чашки Петри. По истечении 48 часов культивирования ведется подсчет выросших колоний 10⁻⁸ и 10⁻⁹, выводится средний показатель концентрации живых микробных клеток в 1 см³ вакцины. Полученная таким путем концентрация лежит в основе

подсчета одной иммунизирующей дозы для каждого вида животных: овцы ИД_{50/мл}= 7,5 млрд., КРС ИД_{50/мл}=10 млрд., свиньи ИД_{50/мл}=15 млрд. микробных клеток.

Результаты исследований. Нами предложен модифицированный метод определения живых микробных клеток путем замены растворения физиологическим раствором на ресуспензирование сухого продукта иммуностимулятора «Биферон-Б» разработанного ООО «НПЦ «ПроБиоТех»», Республика Беларусь. В эксперименте использовали две промышленные серии полуфабриката вакцины листериоза сельскохозяйственных животных из штамма «АУФ» живой сухой «Листекс» для проведения сравнительного контроля по определению концентрации живых листерий и иммуногенной активности на морских свинках. Данные представлены в таблице 1 и таблице 2.

Таблица 1 – Сравнительная оценка результатов контроля по показателю «концентрация живых листерий» в вакцине «Листекс»

Опытные образцы вакцины	Вид растворителя	Количество микробных клеток, степень разведения		Концентрация живых листерий, млрд/см ³	Количество доз во флаконе
		10 ⁻⁸	10 ⁻⁹		
образец №1 от 21.04.17	МПБ с 20% сыворотки КРС и 1% глюкозы	22	2	21	28
		24	2		
		19	2		
образец №2 от 21.04.17	Биферон-Б	20	2	24	32
		20	3		
		23	3		
образец №3 от 21.04.17	МПБ с 20% сыворотки КРС и 1% глюкозы	28	3	30	40
		30	3		
		32	3		
образец №4 от 21.04.17	Биферон-Б	35	3	36	48
		37	4		
		33	4		

Данные представленные в таблице 1 свидетельствуют о более полном выявлении живых микробных клеток вакцинного штамма «АУФ» при использовании в качестве растворителя «Биферон-Б».

Следующим этапом работы является сравнительная оценка иммуногенной активности образцов вакцины с разными методами определения жизнеспособности. Были отобраны 4 группы опытных животных (n=10) и контрольная (n=10).

Анализируя данные, представленные в табл.2, можно сделать вывод, что применение иммуностимулятора «Биферон-Б» при определении степени иммуногенности вакцины против листериоза сельскохозяйственных животных из штамма «АУФ» живой сухой «Листекс» не влечет за собой снижение иммуногенной активности вакцины.

Таблица 2 – Сравнительная оценка иммуногенной активности вакцины «Листекс» с разными методами определения иммунизирующей дозы в вакцине

Опытные образцы вакцины	Вид растворителя	Кол-во доз во флаконе	Дата вакцинации	Дата заражения	УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ			
					Вакцинированные		Контроль	
					Живы	Пали	Живы	Пали
образец №1 от 21.04.17	физраствор рН 7,2-7,4	28	27.07.17	10.08.17	9	1	-	10
образец №2 от 21.04.17	Биферон –Б	32	27.07.17	10.08.17	10	-		
образец №3 от 21.04.17	физраствор рН 7,2-7,4	40	27.07.17	10.08.17	8	2		
образец №4 от 21.04.17	Биферон –Б	48	27.07.17	10.08.17	9	1		

Профилактическая эффективность вакцины ресуспензированной биопрепаратом «Биферон-Б» составила 95% против 85% - вакциной, ресуспензированной традиционным физиологическим раствором.

Заключение. Результаты исследований подтверждают эффективность использования биопрепарата «Биферон-Б» в качестве растворителя для вакцины против листериоза сельскохозяйственных животных из штамма «АУФ» живой сухой «Листекс». Биопрепарат нетоксичен в используемых дозах, не вызывает побочных реакций в организме, стимулирует гуморальный и клеточный иммунитет.

Использование биопрепарата «Биферон – Б» в качестве растворителя вакцин позволит достичь более напряженного иммунного ответа при вакцинациях животных.

Список литературы:

1. Бакулов, И.А. Листериоз сельскохозяйственных животных / И.А. Бакулов. – М.: Колос, 1967. – 296 с.
2. Гильмутдинов, Р.Я. Инфекционные болезни экзотических и диких животных / Р.Я. Гильмутдинов, А.В. Иванов, А.Н. Панин. – М.: Колос, 2010. – 668с.
3. Калишин, Н.М. Листериоз крупного рогатого скота / Н.М. Калишин. – Л.: Колос. Ленингр. отделение, 1987. – 96 с.
4. Методические рекомендации по лабораторной диагностике листериоза животных и людей. – Москва, 1987.