

ЭФЕКТЫЎНАСЦЬ ВАКЦЫНЫ ПРЫ СТРАНГІЛОІДОЗЕ ЖЫВЁЛ. II

У цяперашні час асноўным зв'язном у барацьбе з паразітарнымі хваробамі жывёл з'яўляецца выкарыстанне хіміятэрапеўтычных проціпаразітарных сродкаў. Аднак антыгельмінтыкі могуць валодаць імунадэпрэсіўнымі ўласцівасцямі і прыгнечваць імунную сістэму гаспадара, што выклікае зніжэнне імуналагічнай рэактыўнасці жывёл і негатыўна ўплывае на рэзістэнтнасць да паўторнага заражэння [3, 8].

Гэта з'явілася падставой для пошукаў сродкаў імунізацыі жывёл супраць паразітарных хвароб. Так, у Вялікабрытаніі найбольш надзейнай лічыцца сістэма барацьбы з дыктыякаулэзам буйной рагатай жывёлы з выкарыстаннем вакцынацыі. Імунізацыя маладняку гарантуе пажыццёвую прафілактыку захворвання [1]. Пры геманхозе ў якасці вакцыны выкарыстоўвалі гамагенат з інвазаваных лічынак і полаваспелых формаў *Haemonchus contortus*, эмульгіраваны ў роўным аб'ёме ад'юванту Фрэйнда. Парэнтэральная вакцынацыя стымулявала імунную ахову супраць гемонхаў [4]. Узровень аховы пры выкарыстанні вакцыны з апрацаваных ультрагукам лічынак *Ascaris suum* склаў 88—89% [5]. Для імунізацыі супраць эхінакозу і цыстыэркозу выкарыстоўваюцца гетэралагічныя асобіны, антыгены сакрэтаў і экскрэтаў гельмінтаў [2, 7]. Створаны вакцыны супраць шыстасомаў, фасцыёлаў і анкіластомаў з апрамененых рознымі дозамі цэркарыяў, метацэркарыяў і адалескарыяў паразітаў [6, 9].

Работа праводзілася ў лабараторыі паразіталогіі і віварыі Беларускага навукова-даследчага інстытута эксперыментальнай ветэрынарыі імя С. Н. Вышалескага. Інвазійную культуру лічынак странгілоідаў атрымлівалі ад трусоў-донараў. Для заражэння трусоў інвазійныя лічынкі бралі ад спантанна заражаных ягнят шляхам культывавання фекаліяў з дрэўным пілавіннем у суадносінах 1:2 пры тэмпературы 27°C у тэрмастаце на працягу двух дзён з рэгулярным увільгатненнем і аэрацыяй. Лічынкі выдзялялі па Берману і адмывалі шляхам седыментацыі водаправоднай вадой ад свабодных генерацый. Трусоў у колькасці 15 галоў заражалі ў дозе 20 тыс. інвазаваных лічынак странгілоідаў на галаву: 2/3 дозы перкутанна ў вобласці ўнутранай паверхні бядра і 1/3 на слізистую рота пад язык. Праз 9—12 дзён фекаліі даследавалі на наяўнасць яеп флатацыйным метадам. Лічынкі странгілоідаў атрымлівалі па метадзе Бермана, адмывалі стэрыльным фізіялагічным растворам і захоўвалі ў ім пры тэмпературы —18°C. Падлік праводзілі па метадзе шматразовых разбаўленняў.

Для прыгатавання вакцыны адмытыя лічынкі странгілоідаў суспензіравалі ў забуфераным фізіялагічным раствору з разліку 1 млн/мл і механічна дэзінтэравалі ў шаравым млыне да 70—75%-нага разбурэння лічынак. Неразбураныя паразіты і буйныя фрагменты аддзяляліся цэнтрыфугаваннем пры 500 г. Прэпарат кансервавалі мертыялатам натрыю (1:1000). Бялок у надасадачнай вадкасці вызначалі па біурэтавай рэакцыі. Колькасць бялку ў вакцыне даводзілі да 20 мг/мл, сарбіравалі яго на гідравокісу алюмінію. Колькасць апошняга, неабходную для максімальнай адсорбцыі бялку, вызначалі шляхам дабаўлення 3,18%-нага яго раствору ў колькасці 5, 10, 15, 20 і 25% да аб'ёму антыгену пры экспазіцыі 1—2 сут пры хатняй тэмпературы. Затым пасля цэнтрыфугавання ў надасадку кожнай пробы вызначалі колькасць бялку. Гатовы прэпарат захоўваўся ў ампулах пры +4—8°C. Вакцыну правяралі на колькасць бялку, бяшкоднасць, таксічнасць і стэрыльнасць. Стэрыльнасць вызначалі шляхам высева вакцыны на МПА, МПБ,

бясшкоднасць — шляхам падскурнага ўвядзення тром марскім свінкам масай 300—400 г вакцыны ў дозе 0,5 мл. Тром свінкам вакцыну не ўводзілі, і яны з'яўляліся кантролем. Назіранні за жывёламі праводзілі на працягу 30 сут.

Таксічнасць вакцыны правяралі на белых мышах. Перад увядзеннем вакцыны вызначалі агульную масу доследных і кантрольных мышэй. Дзесяці мышам унутрычарэўна ўводзілі вакцыну ў дозе 0,4 мл. Клінічнае назіранне за станам мышэй працягвалася 14 дзён, пасля чаго вызначалі агульную масу мышэй.

У I серыі доследаў было сфарміравана пяць груп трусоў па тры галавы ў кожнай. Трусy V групы — інтактныя ад паразітаў, IV групы — кантроль заражаны, трусам I групы ўвялі вакцыну аднаразова ў дозе 30 мг на галаву па бялку, II — вакцыну ўвялі двухразова ў той жа дозе, жывёлам III групы — гідравокіс алюмінію ў 3,18%-най канцэнтрацыі ў дозе 1 мл падскурна. Затым праз 14 дзён пасля апошняй вакцынацыі жывёл I—IV груп заражалі інвазійнымі лічынкамі странгілоідаў у дозе 15 тыс. перкутанна ў вобласці ўнутранай паверхні бядра і на слізистую рота. Кроў для даследавання бралі да вакцынацыі, на 7-ы і 21-ы дзень пасля яе і на 4, 9, 12 і 19-ы дзень пасля заражэння.

У II серыі доследаў вывучэнне вакцыны правялі на трох групах ягнят: жывёлам III групы ўвялі вакцыну ў дозе 3 мл на галаву падскурна двойчы з інтэрвалам у 7 дзён. Праз два тыдні ягнят II і III груп заразілі інвазійнымі лічынкамі странгілоідаў у дозе 15 тыс. лічынак на галаву на працягу трох дзён (45 тыс. лічынак) апісаным вышэй спосабам. Ягняты I групы былі інтактнымі ад странгілоідаў (кантроль чысты). Кроў даследавалі да вакцынацыі, на 7-ы і 21-ы дзень пасля яе і на 3, 7, 13 і 21-ы дзень пасля заражэння.

У III серыі доследаў правялі параўнальнае вывучэнне вакцыны супраць странгілоідозу жвачных на аснове няпоўнага ад'юванту Фрэйнда і гідравокісу алюмінію. Для гэтага былі сфарміраваны чатыры групы трусоў. Жывёлам I групы ўвялі вакцыну на аснове няпоўнага ад'юванту Фрэйнда, II — на аснове гідравокісу алюмінію, III — кантроль заражаны, IV — кантроль чысты (інтактны).

Кроў ад жывёл бралі да вакцынацыі, на 7-ы, 21-ы дзень пасля яе і на 3, 7, 12 і 20-ы дзень пасля заражэння для даследавання на гематалагічныя, біяхімічныя і імуналагічныя паказчыкі (РІД і ІФА). Даследаванне фекаліяў на наяўнасць яец странгілоідаў праводзілі на 11—12-ы дзень, 15-ы і 20-ы дзень пасля заражэння.

Пры распрацоўцы рэгламенту атрымання эксперыментальнага ўзору вакцыны супраць странгілоідозу жвачных адпрацаваны параметры дэзінтэграцыі лічынак странгілоідаў, спосабы кансервавання і метады выкарыстання. Вышукваюцца дэпаніруючыя сродкі, якія валодалі б добрай адсарбцыйнай здольнасцю і ў злучэнні з антыгенам былі б слабарэактагеннымі і бясшкоднымі. Адпрацоўваецца доза вакцыны, якая валодае найбольш высокай пратэктывунай актыўнасцю, на лабараторных жывёлах і ягнятах.

Трусy, заражаныя інвазійнымі лічынкамі странгілоідаў, пачалі выдзяляць яйцы з фекаліямі на 11—12-ы дзень і працягвалі выдзяленне ў наступныя 15—19 дзён. У выніку культывавання яец странгілоідаў было атрымана 200 млн лічынак. Лічынкі захоўвалі ў ізатанічным раствору хларыду натрыю пры —18 °С.

Пасля механічнай дэзінтэграцыі лічынак странгілоідаў атрыманы антыген змяшчаў 45,27 мг/мл бялку. Было вызначана, што для дэпаніравання вакцыны неабходна дадаць да аб'ёму антыгену 20% 3,18%-нага гідравокісу алюмінію.

У выніку высева на пажыўныя асяроддзі вакцына была стэрыльнай, г. зн. адсутнічаў рост мікраарганізмаў на працягу 5 сут.

Пры вывучэнні бясшкоднасці вакцыны вызначана, што марскія свінкі на працягу 30 дзён засталіся жывыя. Сярэдняя маса іх да ўвядзення

была роўная 350 г, у канцы назірання — 372 г. На працягу ўсяго перыяду назірання жывёлы былі актыўныя, ахвотна з'ядалі корм. На месцы ўвядзення на працягу 2—3 дзён адзначалася невялікая бязбольная прыпухласць, якая потым знікла.

У доследзе на белых мышах вывучэнне вакцыны паказала, што яна не валодае таксічнымі ўласцівасцямі. Усе мышы на працягу тыдня былі жывыя, рухавыя, ахвотна з'ядалі корм. Сярэдняя жывая маса мышэй да доследу складала 170 г, пасля яго — 171 г.

На трусах вызначана, што пірагенных уласцівасцяў вакцына не мае. Тэмпература іх цела хісталася ад 38,9 да 39,1 °С.

Даследаванне вакцыны на ягнятах паказала, што яна з'яўляецца бяшкроднай, не таксічнай і не валодае пірагеннымі ўласцівасцямі. У ягнят на месцы ўвядзення назіралася невялікая, абмежаваная, бязбольная, негарачая прыпухласць. Жывёлы былі актыўныя.

Даследаванні гематалагічных паказчыкаў сведчаць пра тое, што колькасць эрытрацытаў у крыві жывёл усіх груп вагалася ў межах паказчыкаў кантрольнай інтактнай групы. У жывёл II і III груп на 21-ы дзень пасля вакцынацыі адзначаўся нязначны лейкацытоз: $7,1 \pm 0,37$ і $7,7 \pm 0,11$ тыс./мл супраць $6,6 \pm 0,34$ тыс./мл у заражаных жывёл. На 9-ы дзень пасля заражэння ўзровень лейкацытаў верагодна знізіўся ў жывёл II групы на 24,32% ($P < 0,01$) і III — на 22,52% ($P < 0,05$) у адносінах да заражаных жывёл.

Колькасць гемаглабіну ў крыві жывёл, якія былі вакцынаваны аднаразова, двухразова і атрымлівалі гідраксал на 9-ы дзень пасля заражэння, была больш высокай на 17,66; 20,78 і 22,08% адпаведна ў параўнанні з заражанымі жывёламі і заставалася на больш высокім узроўні ў I групе — $9,3 \pm 0,68$, у II — $9,9 \pm 0,5$, у III — $10,4 \pm 0,06\%$ супраць $8,5 \pm 0,5\%$ на 12-ы дзень пасля заражэння.

Колькасць агульнага бялку ў сываратцы крыві двухразова вакцынаваных жывёл была больш высокай на 8% на 19-ы дзень пасля заражэння, а ў трусаў III групы — на 14,65% на 12-ы дзень, чым у заражаных жывёл.

Жывая маса трусаў да канца доследу была больш высокай у I групе на 12,44%, у II — на 21,79, III — на 15,55, а ў заражанага кантролю — на 6,75%.

Вывучэнне дынамікі ўтварэння антыцелаў паказала, што ў IФА адзначана нарастанне іх колькасці ў вакцынаваных жывёл у параўнанні з іх узроўнем да вакцынацыі. У аднаразова вакцынаваных перавышэнне аптычнай шчыльнасці складала 1,72 раза, у двухразова вакцынаваных — 1,9 раза. У аднаразова вакцынаваных жывёл пасля імунізацыі ў РІД выяўлена ад 1 да 2 ліній прэцыпітацыі, у двухразова вакцынаваных — ад 1 да 3 ліній.

Пры вывучэнні ўплыву вакцыны супраць странгілаідозу ў ягнят вызначана, што колькасць гемаглабіну і эрытрацытаў у крыві была на ўзроўні кантрольных жывёл. У ягнят на 7-ы дзень пасля вакцынацыі колькасць лейкацытаў у крыві павялічвалася на 44,96% ($P < 0,02$). Пасля заражэння лічынкамі странгілаідаў на 7-ы дзень узровень лейкацытаў у іх знізіўся да $4,5 \pm 0,54$ тыс./мл супраць 5,2 тыс./мл у заражаных ягнят і заставаўся на больш нізкім узроўні і на 13-ы дзень пасля заражэння.

Колькасць агульнага бялку ў сываратцы крыві ў вакцынаваных і заражаных жывёл на 21-ы дзень пасля заражэння была больш высокай на 12,5%, чым у заражаных ягнят.

Пры вывучэнні дынамікі ўтварэння антыцелаў вызначана, што да вакцынацыі рэакцыяй імунадыфузіі (РІД) антыцелы ў сываратках крыві не былі выяўлены. Пасля вакцынацыі перад правярачным заражэннем выяўлена ад 1 да 2 ліній прэцыпітацыі.

Параўнальнае вывучэнне вакцын на аснове няпоўнага ад'юванту Фрэйнда і гідравокісу алюмінію верагоднай розніцы ў колькасці эры-

трацятаў, лейкацятаў, гемаглабіну і бялку не выявіла. Найбольш высокая колькасць гемаглабіну ў трусоў II групы $10,22 \pm 0,58$ г% адзначана на 7-ы дзень пасля вакцинацыі, у III групы — $9,0 \pm 0,85$ г%, якая заставалася на павышаным узроўні і ў наступныя дні. Колькасць эрытрацятаў у жывёл II і III груп вагалася ад $4,2 \pm 0,27$ да $5,1 \pm 0,27$ млн/мл, лейкацятаў — ад $5,3 \pm 0,54$ да $6,7 \pm 0,99$ тыс/мл.

У колькасці агульнага бялку ў сываратцы крыві не назіралася істотных змяненняў.

Дынаміку антыцелаў вывучалі ў РІД і ІФА. У ІФА пры выкарыстанні ад'юванту Фрэйнда адзначана павышэнне аптычнай шчыльнасці пасля вакцинацыі ў параўнанні з узроўнем да вакцинацыі ў 2,2 раза, пры выкарыстанні гідравокісу алюмінію — у 1,8 раза.

У РІД у абодвух выпадках выяўлена ад 1 да 2 ліній прэцыпітацыі.

Вынікі ўліку прыжывальнасці странгілоідаў сведчаць пра тое, што ў жывёл кантрольнай групы было выяўлена $1356 \pm 65,0$ экз., у жывёл, вакцынаваных на аснове няпоўнага ад'юванту Фрэйнда, — $283 \pm 13,8$ і на аснове гідравокісу алюмінію — $330 \pm 99,3$ экз. Прыжывальнасць странгілоідаў складала ў жывёл II групы 24,34 і III — 20,87% у параўнанні з кантролем.

Такім чынам, пратэктывная актыўнасць вакцыны на аснове няпоўнага ад'юванту Фрэйнда роўная 79,13% і на аснове гідравокісу алюмінію — 75,66%.

Вывады

1. Атрыманы лабараторны ўзор вакцыны з лічынак странгілоідаў і даследаваны на лабараторных жывёлах.

2. Пратэктывная актыўнасць вакцыны пры странгілоідозе складае 75,76—79,13%.

3. Вакцына з лічынак странгілоідаў валодае імунагеннай актыўнасцю, што пацвярджаецца выяўленнем антыцелаў у ІФА і РІД, яна бяшкодная, апірагенная і нетаксічная.

Summary

Data on the development of a vaccine against strongyloidoses of animals are presented. Methods of desintegration and preservation of strongyloidoses larvae are worked out, adjuvants are selected; properties of the strongyloidosis vaccine developed are studied using immo-diffusion test and ELYSA. The vaccine is harmless, apyretic, atoxic and its protein activity reaches 75,76—79,13%.

Літаратура

1. Анакина Ю. Г. // Иммунопрофилактика эндопаразитарных болезней. М., 1990. С. 26—27.
2. Бессонов А. С., Ястреб В. Б. // Вестник с.-х. науки. 1987. № 6. С. 100—104.
3. Даугалиева Э. Х., Филиппов В. В. // Иммунный статус и пути его коррекции при гельминтозах с.-х. животных. М., 1991. С. 120—127.
4. Adams D., Beh K., Davies H. // Inter. J. Parasitol. 1982. Vol. 52, N 5. P. 445—449.
5. Benkov M. // Helminthologia. 1982. Vol. 19, N 1. P. 47—89.
6. James E., Dobinson A., Lucas S. // J. Helminthol. 1985. Vol. 59, N 1. P. 51—55.
7. Kumar D., Laur S., Pathak K. // Indian J. Anim. Sci. 1987. Vol. 57, N 9. P. 932—935.
8. Luffan O., Perry P., Carrat C. // Ann. Rech. Veter. 1985. Vol. 16, N 1. P. 17—23.
9. Jouniz S. // J. Helminthol. 1986. Vol. 60, N 2. P. 123—134.

БелНДІЭВ імя С. М. Вышалескага

Паступіў у рэдакцыю
4.01.94