

ВИВЧЕННЯ ДІЇ ЕШЕРІХІОЗНОГО АНАТОКСИНУ НА ОРГАНІЗМ ТВАРИН В ЛАБОРАТОРНИХ УМОВАХ

Л. М. Коваленко, к.вет.н, доцент, Сумський національний аграрний університет

О. І. Коваленко, к.вет.н., Сумська РДПВМ

А. О. Коваленко, студент, Сумський національний аграрний університет

З представлених результатів встановлено, що найбільш активне накопичення титрів антитіл відбувається при введенні більш низьких доз комплексу інактивованих токсинів E. coli. Тривалість циркуляції антитоксичних ешеріхіозних антитіл не перевищує 14 днів. Спільне застосування анатоксину з поліакриловою кислотою забезпечує посилення імунної відповіді.

Ключові слова: колібактеріоз, ешеріхіозний анатоксин, титр антитіл.

Постановка проблеми у загальному вигляді. В умовах промислового тваринництва великої шкоди завдають хвороби, на виникнення яких впливають умови утримання, так звані факторні хвороби. До їх числа відносяться колібактеріоз. Основне значення в комплексі заходів боротьби з цією хворобою має місце специфічна профілактика, в тому числі вакцинація. Однак вона не завжди виявляється ефективною в багатьох свинарських господарствах реєструються спалахи захворювання із значним відходом поросят. У зв'язку з цим, при проведенні профілактичних заходів, спрямованих на боротьбу з колібактеріозом, багато дослідників вважають за необхідне, поряд зі специфічними препаратами використовувати засоби, що стимулюють імунну відповідь і, отже, вироблення напруженого імунітету

Зв'язок з важливими науковими та практичними завданнями. Дослідженнями доведено, що збудник даної інфекції володіє широким спектром антигенних детермінант, що змушує проводити постійний епізоотологічний моніторинг щодо присутності E. Coli факторів патогенності. Однак, як вважає більшість зарубіжних дослідників найбільш стабільними факторами, яким належить основна роль у розвитку ешеріхіозної інфекції є екзотоксини. У зв'язку з вищевказаним, набуває актуальність вивчення питання дії ешеріхіозного анатоксину на організм тварин в лабораторних умовах.

Аналіз основних досліджень і публікацій. Дослідженнями доведено, що з утворення не великих фермерських господарств з розведення та вирощування свинопоголів'я діагностувати стає складніше колідіарю, тому великого значення набувають лабораторні методи діагностики [5]. На відміну від токсичної диспепсії у великих концентраціях виділяють ентеротоксигенну кишкову паличку з адгезивним антигеном. Бактеріологічний діагноз на колієнтерит за визначенням тільки O-антигенної належності кишкової палички не є достатньо достовірним [7]. З літературних джерел виявлено, що інактивовані форми цих токсинів в даний час використовуються при конструюванні компонентних засобів специфічної профілактики. Найчастіше застосовується два види токсинів: термолабільний і термо-

стабільний, хоча встановлено, що переважну роль у розвитку патологічного процесу може грати шігаподібний токсин [2; 11]. Тому результати досліджень дозволяють узагальнити отримані данні відносно комплексного ешеріхіозного анатоксину, що включає в себе три інактивованих токсину - термолабільний, термостабільний і шігаподібний токсин.

Метою наших досліджень було вивчення імуногенних властивостей ешеріхіозного анатоксину.

Матеріали і методи досліджень. Об'єктом наших досліджень були білі криси вагою 180 – 200 г, з яких було зформовано 7 груп по 5 тварин у кожній. Матеріалом наших досліджень слугували анатоксин і поліакрилова кислота, вакцина «Колівак», сироватка від лабораторних тварин. Дослідження були проведені у Регіональній державній лабораторії ветеринарної медицини. Анатоксин тваринам 1 і 3 груп вводили одноразово внутрішньом'язово в дозах 0,15, 0,3 і 0,6 мл відповідно. Щурам 4 групи - ін'єктували по 0,15 мл анатоксину дворазово, з інтервалом 7 днів, 5 групи - по 0,15 мл анатоксину і поліакрилову кислоту в дозі 0,2 мг / кг, яку використовували в якості імуномодулятора, 6 групи - перший раз імунізували дозою 0,15, а другий - 0,3 мл. Тварин 7-ї групи (контроль) імунізували вакциною «Колівак» в дозі 0,15 мл з ревакцинацією через 7 днів у дозі 0,3 мл. Сироватку від тварин всіх груп отримували через 7 днів після другої ін'єкції. Через 7, 14 і 21 днів у тварин відбирали кров для дослідження в РНГА на наявність специфічних антитоксичних антитіл. З цією метою використовували еритроцитарний діагностикум. Облік реакції проводили через 2 год. За титр антитіл брали найвище розведення сироватки, при якому відбувалася аглютинація сенсibilізованих еритроцитів не менше ніж на два хрести.

Результати власних досліджень та їх обговорення. У дослідях, проведених раніше, з вивчення первинної імунної відповіді досліджувалися дози анатоксину: 0,15, 0,3, 0,6 мл. Тому ці ж дози досліджувалися і в даному досліді. Спочатку розглянули накопичення титрів антитіл після одноразової імунізації через 7, 14 і 21 день. Результати даного досвіду відображені в таблиці 1, з

якої видно, що у тварин всіх груп після одноразової ін'єкції анатоксину відбувається вироблення специфічних антитіл, однак інтенсивність їх накопичення різна. Найбільший титр антитіл реєструється у тварин, яким ін'єктували 0,15 мл анатоксину.

Таблиця 1 - Концентрація антитоксичних антитіл в крові у щурів після двократного введення ешеріхіозної анатоксину

Група	Титри антитіл		
	7 діб	14 діб	21 доба
1	1:8–1:32	1:2–1:8	-
2	1:2–1:4	-	-
3	1:2–1:16	-	-

У сироватці крові щурів 1 групи через 7 днів після введення анатоксину рівень титрів антитіл знаходився в діапазоні 1:8-1:32. У меншій мірі специфічні антитіла утворювалися у щурів з 2 і 3 груп. У них титри антитіл не перевищували 1:4 і 1:16 відповідно. Слід зазначити, що циркуляція антитоксичних антитіл виявилася не тривалою. Через 14 днів вони реєструвалися в кількості 1:2-1:8. тільки у тварин з 1 групи, тоді як у тварин з 2 і 3 груп вони до цього часу вже не виявлялись. Через 21 день антитоксичні антитіла не виявлялися і у тварин з 1 групи. Після цього нами проведені дослідження із застосуванням дворазової імунізації ешеріхіозним анатоксином. В якості контролю була взята вакцина «Колівак», до складу якої входять інактивовані термолабільний і термостабільний токсини. Отримані результати представлені в таблиці 2.

Таблиця 2 - Концентрація антитоксичних антитіл в крові у щурів після двократного введення ешеріхіозного анатоксину

Показник	Група			
	4	5	6	7
Титр антитіл	1:16–1:64	1:64–1:128	1:32–1:64	1:32–1:64

З даних якої видно, що після двократної імунізації анатоксином в дозі 0,15 мл при дослідженні через 7 днів після останньої ін'єкції, в сироватці крові щурів 4 групи концентрація специфічних антитіл збільшилася в 2 рази. Застосування анатоксину спільно з полі акриловою кислотою (5 група) сприяло більш вираженій мунної відповіді, при цьому специфічні антитіла виявлялися в титрах 1:64-1:128, що є свідченням ад'ювантної дії полімеру. Імунізація зростаючою дозою анатоксину (6 група) також сприяла дворазовому наростанню титрів, проте величина цього зростання не свідчила про перевагу даної схеми застосування препарату. Після дворазового застосування вакцини «Колівак» у зростаючій дозі (7 група) показники титріванті тілу імунізованих тварин знаходилися в межах 1:32-1:64.

Отже, отриманий анатоксин за своїми імуногенними властивостями не поступається відомому препарату, а використання його з поліакриловою кислотою дозволяє формувати у тварин більш напружений антитоксичний імунітет.

Висновки. 1. Найбільш активне накопичення титрів антитіл відбувається при введенні більш низьких доз комплексу інактивованих токсинів *E. coli*.

2. Тривалість циркуляції антитоксичних ешеріхозних антитіл не перевищує 14 днів.

3. Спільне застосування анатоксину з поліакриловою кислотою забезпечує посилення імунної відповіді.

Перспективи подальших досліджень. Дослідження з даного питання, свідчать про доцільність вивчення дії ешеріхозного анатоксину на організм тварин.

Список використаної літератури:

1. Зароза В.Г. Эшерихиоз телят / Зароза В.Г. — М.: Агропромиздат, 2002. — 267с.
2. Куликовский А.В. Токсигенные эшерихии – актуальная проблема ветеринарии медицины / А.В. Куликовский, А.Н. Панин, В.В. Соснина // Ветеринария, 1997.- №3. — С. 25.
3. Ратинер Ю.А. Энтерогеморрагические кишечные палочки и вызываемые ими заболевания / Ю.А. Ратинер, В.М. Бондаренко, А. Sitonen // Микр., эпидемиол. и иммунолог, 1998. — №5. — С. 87-96.
4. Соколов В. Д. Иммуностимуляторы в ветеринарии / В.Д. Соколов, Н.Л. Андреева // Ветеринария. — 1995. — № 2. — С. 33-35.
5. Степаншин Ю.Г. Бактерионосительство энтерогеморрагических эшерихий серовара O157:H7 у животных / Ю.Г. Степаншин, Э.А. Светоч, Б.В. Ерусланов // Ветеринария, 2005.— №7. — С. 17-22.
6. Улиско И.Н. О необходимости пересмотра бактериологических критериев этиологической значимости диареогенных штаммов эшерихий при диагностике острых кишечных инфекций / И.Н. Улиско, А.П. Батуро, Э.Е. Романенко и др. // Микр., эпидемиол. и иммунол., 1996. —№6. —С. 7-10.

Коваленко Л.М., Коваленко А.И., Коваленко А.А. Изучение действия эшерихиозного анатоксина на организм животных в лабораторных условиях

*Из представленных результатов установлено, что наиболее активное накопление титров антител происходит при введении более низких доз комплекса инактивированных токсинов *E. coli*. Продолжительность циркуляции антитоксических эшерихозных антител не превышает 14 дней.*

Совместное применение анатоксина с полиакриловой кислотой обеспечивает усиление иммунного ответа.

Ключевые слова: колибактериоз, эшерихиозный анатоксин, титр антител.

Kovalenko L.M, Kovalenko A.I., Kovalenko A.A. Study of the effects of E.coli anatoxin on animals in the laboratory

From the results it was shown that the most active accumulation of antibody titers occurs with the introduction of lower doses of inactivated toxin complex of E.coli .Length of circulation of anatoxic antibodies of E.coli do not exceed 14 days. Combined use of tetanus toxoid with polyacrylic acid provides enhanced immune response.

Keywords: colibacillosis, anatoxin of E.col, antibody titer.

Дата надходження в редакцію: 16.02.2013 р.

Рецензент: д.вет.н., професор В.Ю. Кассіч

УДК 619:611.013:57.085.2:636

**ОПТИМАЛЬНІ УМОВИ ВИДІЛЕННЯ ТА КУЛЬТИВУВАННЯ АДГЕЗИВНОЇ ФРАКЦІЇ
МОНОНУКЛЕАРНИХ КЛІТИН КІСТКОВОГО МОЗКУ МИШІ**

А. Й. Мазуркевич, д.вет.н., професор

Л. В. Кладницька, к.вет.н., доцент

В. В. Ковпак В.В., к.вет.н.

Національний університет біоресурсів і природокористування України

У статті розглядається вплив параметрів центрифугування адгезивної фракції мононуклеарних клітин кісткового мозку миші в градієнті щільності фіколу 1,074, 1,076, 1,078, 1,080 з відцентровою силою 300 g з метою забезпечення отримання фракції клітин, найбільш збагаченої на мезенхімальні стовбурові клітини. Також розглядаються умови отримання клітин кісткового мозку, за яких їх суміш найбільш сприяє проліферативній активності МСК миші.

Ключові слова: мезенхімальні стовбурові клітини, кістковий мозок, проліферативна активність, миші.

Постановка проблеми. Для формування та росту колоній мононуклеарних клітин кісткового мозку необхідна певна концентрація та співвідношення речовин та факторів, які виділяються у середовище в процесі життєдіяльності самими клітинами. За різних методик отримання співвідношення та кількість вказаних речовин неоднакова, що у свою чергу впливає на формування та ріст колоній клітин.

Відомо, що клітини багатоклітинного організму потребують обміну інформацією між собою для регулювання свого розвитку, організації в тканини, контролю процесів росту та ділення, для координації функцій. До складу кісткового мозку входять фібробласти, макрофаги, адипоцити, остеобласти, остеокласти, ендотеліальні клітини, мезенхімальні та гемопоетичні стовбурові клітини, а також їх комітовані нащадки [3,4].

Життєдіяльність клітин у культурі значно спрощена порівняно з функціонуванням в організмі, і, як правило, обмежена лише поділом. Взаємодія клітин кісткового мозку підтримує перебування мезенхімальних стовбурових клітин у неактивній фазі мітозу (G_0) – у, так званому, дормантному стані, а вихід їх з цього стану, перехід у мітотичний цикл регулюється зміною міжклітинних сигналів [5,1]. Міжклітинна взаємодія відбувається за допомогою гормонів, нейромедіаторів, та гістогормонів. Очевидно, останній тип міжклітин-

ної передачі сигналів присутній між клітинами кісткового мозку, а сигнали, що надходять до клітин кісткового мозку і сповіщають про порушення гомеостазу в організмі, надходять за допомогою гормональних та нейромедіаторних речовин. Ці сигнали і дають команду, яка стимулює вихід певної кількості стовбурових клітин з дормантного стану, які в подальшому стають на шлях диференціювання та мігрують в зону патологічного процесу під дією все тих же міжклітинних сигналів [2,3]. Одні й ті ж сигнальні молекули можуть викликати у клітин-мішеней неоднакову відповідь. В одних випадках це пов'язано з тим, що сигнальна молекула зв'язується з різними білками-рецепторами, в інших випадках вони зв'язуються з однаковими білками-рецепторами, але активують в різних клітинах різні механізми відповіді. Деякі реакції клітин бувають поступовими та посилюються прямо пропорційно збільшенню ліганду. Однак існує інша група клітин, яка реагує на збільшення концентрації сигнальної речовини за принципом «все або нічого»; в цьому випадку у клітин-мішеней не спостерігається ніяких змін доки концентрація ліганду не досягне порогового рівня, а з досягненням його - відразу розпочинається максимальна реакція [6].

Як уже відмічалось, однією з ознак МСК є їх висока адгезивна здатність до культурального посуду при культивуванні. Це дозволило, в свій