

УДК: 619:615. 371/616.981.55-085

В. П. РИЖЕНКО, доктор ветеринарних наук, професор, член-кор. НААН

Г. Ф. РИЖЕНКО, кандидат біологічних наук

О. І. ГОРБАТЮК, кандидат ветеринарних наук

В. О. АНДРІЯЩУК, О. В. РУДОЙ, Л. С. МІЛЬКО

Інститут ветеринарної медицини НААН України (м. Київ)

О. Л. КРАВЦОВА

Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, м. Київ

ОБГРУНТУВАННЯ СТВОРЕННЯ ТА ЕФЕКТИВНІСТЬ ВАКЦИНИ АСОЦІЙОВАНОЇ ІНАКТИВОВАНОЇ ДЛЯ ОДНОЧАСНОЇ ПРОФІЛАКТИКИ ФУЗОБАКТЕРІОЗУ І АКТИНОБАЦИЛЬОЗУ ТВАРИН – «ФУЗОАКТИНОСАН»

У статті висвітлені обґрунтування необхідності та можливість створення асоційованої вакцини для одночасної профілактики фузобактеріозу (некробактеріозу) і актинобацильозу (лігнієріозу) тварин. Авторами розроблена технологія її виробництва. Виготовлені 2 дослідні зразки вакцини, проведені доклінічні та виробничі випробування. Установлена висока ефективність вакцини «Фузоактиносан». На вакцину розроблена нормативно-технічна документація, отримано патент України.

Ключові слова: фузобактеріоз (некробактеріоз), актинобацильоз (лігнієріоз), вакцина, ефективність.

Захворювання тварин на фузобактеріоз та актинобацильоз реєструється у багатьох країнах світу, у тому числі і в Україні.

Фузобактеріоз (некробактеріоз) – одне із найпоширеніших захворювань, усіх видів тварин, характеризується різноманітністю клінічного прояву, тяжкістю перебігу і високою летальністю. Фузобактеріоз, як зооантропонозна інфекція, має велике соціальне значення. У людей захворювання на фузобактеріоз може спостерігатись як первинна або вторинна інфекція (хвороба Лем'єра).

Відомо, що післяпологові та післяопераційні ускладнення, абсцеси легень та інших органів нерідко закінчуються летально. Тому система захисту тварин від фузобактеріозу передбачає одночасно і захист людини від цього небезпечного захворювання.

Фузобактеріоз характеризується гострим, підгострим або хронічним перебігом, некрозами шкіри та тканин кінцівок, метастатичними і некротичними процесами у внутрішніх органах, виразковими ураженнями ротової порожнини, гортані, явищами сепсису та високою летальністю.

За захворювання кінцівок великої рогатої худоби на частку цієї хвороби припадає 40 – 60 % усіх уражень. Від фузобактеріозу гине до 30 % дорослої худоби та 80 % молодняка, а загибель поросят та курчат сягає до 100 % [1].

Економічні збитки, яких завдає тваринництву фузобактеріоз, досить значні і пов'язані з передчасним вибракуванням тварин через зниження м'ясної і молочної

продуктивності, інтенсивності росту молодняка, втратою відтворювальної функції у корів, а також пов'язані з витратами на проведення лікувально-профілактичних та санітарних заходів у господарствах [2].

Для скорочення збитків від фузобактеріозу необхідно своєчасно проводити діагностичні, профілактичні заходи і лікування тварин на ранніх стадіях розвитку хвороби [3].

У результаті десятирічного власного досвіду з вивчення фузобактеріозу, авторами здійснено певний внесок у розробку технології виготовлення сучасних біологічних засобів захисту тварин від цього захворювання [4].

Уперше в Україні, на базі лабораторії анаеробних інфекцій ІВМ НААН, розроблено інактивовані асоційовані вакцини для профілактики фузобактеріозу і асоційованих з ним інших небезпечних захворювань, а саме:

- вакцина „Некросан” – асоційована концентрована інактивована проти некробактеріозу, некротичного гепатиту, злякисного набряку та інфекційної (анаеробної) ентеротоксемії тварин [5];

- вакцина „Некросан-2” – асоційована інактивована концентрована проти некробактеріозу (фузобактеріозу), некротичного гепатиту, злякисного набряку, інфекційної (анаеробної) ентеротоксемії та колібактеріозу тварин [6];

- вакцина „Некросан-3” – асоційована інактивована концентрована проти копитної гнилі, некробактеріозу (фузобактеріозу), інфекційної (анаеробної) ентеротоксемії та кокових інфекцій тварин [7];

- вакцина „Некросальм” – асоційована інактивована концентрована проти некробактеріозу (фузобактеріозу) та сальмонельозу тварин [8];

- вакцина „Некроколісальм” – асоційована інактивована концентрована проти некробактеріозу (фузобактеріозу), колібактеріозу та сальмонельозу тварин [9].

Іноді у господарствах виявляють захворювання тварин на фузобактеріоз і одночасно на зооантропонозне захворювання – актинобацильоз (лігніеріоз) [10].

Актинобацильоз (псевдоактиномікоз, проактиномікоз, лігніеріоз) – хронічне інфекційне захворювання, яке характеризується утворенням гранульом у м'яких тканинах голови (губ, язика, шкі), шиї, лімфатичних вузлах і внутрішніх органах. Актинобацильозні гранульоми, порівняно з актиномікозом ними, рухливі. Характерним для актиномікозу є ураження кісткових тканин з утворенням зернистих жовто-сірого кольору скупчень – друз.

В Україні цю хворобу уперше виявив В. П. Риженко в 1996 р. В останні роки в Україні ця небезпечна хвороба для людей і тварин набула поширення. Захворювання великої рогатої худоби на актинобацильоз спостерігали у господарствах 9 областей України. Хвороба спричиняє значні економічні збитки внаслідок передчасного бракування, вимушеного забою хворих тварин, зниження інтенсивності росту молодняка, бракування туш та їх частин, зниження відтворювальної функції, молочної продуктивності, втрат племінної цінності худоби, значних втрат на лікувально-профілактичні та оздоровчі заходи. Ця хвороба небезпечна для людей, особливо тих, хто має контакт з хворими тваринами [11].

Для специфічної профілактики актинобацильозу уперше в Україні розроблена вакцина «Актиносан» асоційована інактивована концентрована проти актинобацильозу тварин [12, 13].

У деяких господарствах Полтавської області нами виявленні випадки одночасного захворювання великої рогатої худоби на фузобактеріоз (некробакте-

ріоз) та актинобацильоз (лігнієріоз). В умовах складної епізоотичної ситуації застосування однієї вакцини – «Некросану» або «Актиносану» не давали позитивних результатів. Тому ми прийняли рішення здійснити комплексні щеплення великої рогатої худоби із одночасним роздільним щепленням згаданими вакцинами.

У одному із господарств були виділені контрольні групи хворих нетелів, яких одночасно щеплювали вакциною «Некросан» і «Актиносан» роздільним їх введенням з лівої та правої сторони в області шиї по 10 см³ кожної. Нами були одержані високі показники специфічності цих вакцин.

На підставі одержаних результатів була теоретично і експериментально обґрунтовано можливість створення такої вакцини.

Метою досліджень було обґрунтування можливості створення нової інактивованої асоційованої вакцини, придатної для одночасного щеплення тварин проти фузобактеріозу і актинобацильозу.

Матеріали і методи. Наукова робота виконувалась в умовах лабораторії анаеробних інфекцій ІВМ НААН та в дослідних господарствах Велико-Багачанського та Кременчуцького районів Полтавської області.

Із надісланого патологічного матеріалу нами виділені збудники *Fusobacterium necrophorum* та *Actinobacillus lignieresii*, а також деякі інші асоційовані мікроорганізми.

Після вивчення цих патогенів, відпрацювання умов їх культивування та інактивації були виготовлені 2 дослідних зразки асоційованої вакцини «Фузоактиносан».

Після вивчення вакцини в лабораторних умовах нами здійснені наступні доклінічні дослідження: визначення стерильності (за ДСТУ 4483:2005); нешкідливості (за ДСТУ 46.024-2002); залишкової кількості інактивантів – формальдегіду (згідно Державної фармакопеї України, вип. 1, 2001); повноти інактивації (за ДСТУ 4483:2005 і корелюється з показником стерильності); антигенної активності, концентрації водневих іонів (рН).

Для дослідження використані: білі миші масою 18–20,0 г; морські свинки масою 350,0 – 400,0 г; кролі масою 1,8–2,5 кг.

Результати досліджень та їх обговорення. Для технології виготовлення вакцини «Фузоактиносан» були розроблені наступні етапи:

- здійснена поглиблена поетапна інактивація культур виробничих штамів *Fusobacterium necrophorum* та *Actinobacillus lignieresii* із зміною температурного режиму інактивації від 38 ± 1,0 °С до 24 ± 2,0 °С, протягом усього періоду інактивації рН підтримували у межах 7,2 ± 0,2;

- постійно (2 рази на добу) проводили перемішування анакультур протягом 7 діб інактивації з відбором проб для контролю повноти інактивації;

- в анакультури виробничих штамів мікроорганізмів вносили 3 % стерильний розчин алюмінію гідроксиду. Сорбція антигенів тривала 36–48 годин за температури 24 ± 2,0 °С;

- у ємності з окремими анакультурами, що мали температуру 37–38 °С вносили 1 % стерильного розчину агар-агару за температури 45 ± 1,0 °С з розрахунку 0,03–0,05 % сухої речовини та препарат із імуностимулюючими властивостями.

Приготовлені анакультури фузобактерій і актинобацил змішували у відповідних пропорціях, вирівнювали рН до 7,2–7,4 і вносили розчин брильянтової зелені, перемішували і відбирали проби для контролю готового продукту.

За даними досліджень вакцина за своїми фізичними і біологічними властивостями відповідала вимогам і нормам зазначеним у табл. 1.

Вакцина „Фузоактиносан” призначена для профілактичного щеплення великої рогатої худоби проти фузобактеріозу і актинобацильозу [14]. Щепленню підлягає усе поголів'я великої рогатої худоби виходячи з епізоотичної ситуації у комплексі із загальними протиепізоотичними заходами у відповідності до діючих інструкцій про заходи боротьби з фузобактеріозом та актинобацильозом. Дозволяється щеплення слабких і хворих тварин [15].

Таблиця 1

Фізичні і біологічні властивості вакцини «Фузоактиносан»

Найменування показників	Характеристика і норми	Відповідає чи не відповідає вимогам ВІЗ
1	2	3
Зовнішній вигляд	Прозора рідина з осадом, який при струшуванні розбивається у рівномірну суспензію.	Відповідає
Колір	Рідина від світло-зеленого до світло-коричневого кольору з аморфним блакитно-сірим осадом. Допускається зменшення інтенсивності зеленого забарвлення, що залежить від поживного середовища, використаних антигенів інактивованих епізоотичних штамів мікроорганізмів та терміну зберігання.	Відповідає
Наявність сторонніх домішок, плісняви, тріщин флаконів, порушення щільності закупорки, відсутність етикетки	Не допускається	Відповідає
Стерильність	Повинна бути стерильною	Стерильна
Залишкова кількість інактивантів	Формальдегіду $\leq 0,025 - 0,03 \%$;	Відповідає
Нешкідливість	Повинна бути нешкідливою	Відповідає
Антигенна активність	У двічі щеплених тварин на 7-14 добу після другого щеплення титри аглютининів зростають не менше чим в 3 рази по відношенню до вихідних даних.	Відповідає
Імуногенна ефективність	Імуногенну ефективність визначають на морських свинках	Імуногенна
Концентрація водневих іонів (рН), одиниць	від 7,0 до 7,4	Відповідає

Перед використанням флакони з вакциною переглядають, струшують, підігрівають у теплій воді до температури 36–38°C. Вакцину вводять підшкірно у дозах відповідно до віку тварин. Щеплюють тварин двічі з інтервалом 2–3 тижні, а ревакцинацію здійснюють через 5–6 місяців одноразовим щепленням. За складної епізоотичної ситуації ревакцинувати тварин можна через кожні 3–4 місяці до поліпшення епізоотичного стану у господарстві.

Вакцину застосовують у дозах, указаних в табл. 2.

Таблиця 2

Дози вакцини «Фузоактиносан» для профілактичних щеплень великої рогатої худоби

Вид та вік тварин	Дози, см ³		
	вакцинація		ревакцинація
	I	II	
Корови, нетелі і молодняк старше 2-х років	5,0-10,0	10,0	10,0
Молодняк ВРХ віком 1-2 роки	5,0	5,0	10,0
Молодняк ВРХ віком 6-12 місяців	3,0	5,0	5,0
Телята віком 3-6 місяців	3,0	3,0	5,0
Телята віком 1-3 місяці	2,0	2,0	3,0

Завдяки наявності у вакцині „Фузоактиносан” імуностимулюючого препарату, вона успішно апробована на хворих тваринах з лікувальною метою.

За застосування вакцини з лікувальною метою друге щеплення здійснюють через 5–7 днів після першого, а третє – через 7–10 днів після другого щеплення. В таких випадках тяжко хворим тваринам дозволяється одночасно з вакциною застосовувати антибактеріальні препарати з урахуванням чутливості до них збудників цих хвороб.

У стадах, де кількість хворих тварин сягає 30–50% від усього наявного поголів'я, щепити тварин слід через 30–45 днів до поліпшення епізоотичної ситуації.

Напружений імунітет у щеплених тварин з'являється через 2 тижні після другого щеплення. Вираженість та тривалість імунітету залежать від фізіологічного стану щеплених тварин.

Від виділених груп тварин (n=10) відбирали проби крові для гематологічних та імунологічних досліджень.

В організмі щеплених тварин відбувається імунологічна перебудова про що свідчать показники гуморального і клітинного імунітету. Так, у щеплених тварин уже на 7 добу після вакцинації достовірно зростають показники опсоно-фагоцитарної реакції. На 7 добу після повторної імунізації виражені ознаки завершеності фагоцитозу, зростання протективної властивості сироватки крові як у реакції інгібіції росту мікроорганізмів, що входять до складу вакцини, так і на білих мишах. На 14–21 добу після другого щеплення титри специфічних аглютининів зростають у 4–6 разів. Напружений імунітет зберігається до 6 місяців.

Слід відзначити, що за комплексних щеплень тварин двома вакцинами роздільно у дозах по 10,0 см³ у деяких нетелів протягом години спостерігались ознаки алергії, які зникли без лікарської допомоги. За застосування асоційованої вакцини „Фузоактиносан” будь-яких ознак її реактогенності не реєструвалось.

Випробування вакцини у деяких господарствах Велико-Богачанського і Кременчуцького районів на Полтавщині свідчать про можливість оздоровлення господарства протягом календарного року.

Висновки: 1. Уперше в Україні розроблена асоційована вакцина для профілактики фузобактеріозу та актинобацильозу «Фузоактиносан». Вакцина характеризується високою специфічною ефективністю і не має обмежень для застосування, забезпечує одночасно формування імунітету проти фузобактеріозу і актинобацильозу тварин.

2. Вакцина містить розчинні і корпускулярні антигени відселекціонованих інактивованих епізоотичних штамів *Fusobacterium necrophorum* та *Actinobacillus lignieresii*, які циркулюють на території України і спричиняють захворювання тварин на фузобактеріоз і актинобацильоз, які інколи мають форму змішаної інфекції.

3. Вакцина містить засоби, які сприяють активації синтезу антитіл та зменшують негативний вплив препарату на щеплений організм, завдяки чому вакцину дозволяється застосовувати навіть ослабленим і хворим тваринам з лікувальною метою.

4. За застосування вакцини «Фузоактиносан» знижуються трудові затрати на проведення щеплень одночасно проти двох захворювань в 2–4 рази.

5. Вакцина викликає формування імунітету більшої напруги, ніж моновакцини. Антигени, які містяться у вакцинні, не проявляють конкурентної взаємодії. За застосування вакцини у період спалаху хвороби втрати скорочуються у 3–4 рази.

6. Щеплення тварин вакциною „Фузоактиносан” сприяє підвищенню відтворювальної функції самок, стійкості до захворювань, швидкому одужанню хворих тварин. Щеплення тільних корів сприяє запобіганню абортів, мертвонароджень та захворюванню молодняка.

Пропозиції та перспективи подальших досліджень. Існує необхідність подальшого поглибленого вивчення вакцини, зокрема питань імуногенезу, та можливості її застосування для інших видів тварин.

Список використаної літератури:

1. *Риженко В. П.* Стан та перспективи удосконалення специфічної профілактики фузобактеріозу (некробактеріозу) /

В. П. Риженко, Г. Ф. Риженко, О. І. Горбатюк, В. О. Андріяшук,

Л. С. Мілько, С. Ющенко // *Ветеринарна біотехнологія*. К.: Бюл./ – №14. – 2009. – С. 253–266.

2. *Риженко В. П.* Методи патогенетичної терапії і профілактики фузобактеріозу (некробактеріозу) великої рогатої худоби. Методичні рекомендації для спеціалістів ветеринарної медицини, науковців, викладачів та студентів / В. П. Риженко, Г. Ф. Риженко, О. І. Горбатюк, В. О. Андріяшук та ін. – Київ, 2011. – 55с.

3. *Риженко В. П.* Теоретичне та експериментальне обґрунтування розробки нових вакцин / В. П. Риженко, Г. Ф. Риженко, О. І. Горбатюк, В. О. Андріяшук та ін. // *Ветеринарна біотехнологія*. К.: Бюл./ – №13(1). – 2008. – С. 51–62.

4. *Риженко В. П.* Інтегральна система захисту тварин від фузобактеріозу (некробактеріозу). Методичні рекомендації для спеціалістів ветеринарної медицини, науковців, викладачів та студентів / В. П. Риженко, Г. Ф. Риженко, О. І. Горбатюк, В. О. Андріяшук та ін. – Київ, 2011. – 69с.

5. Патент 12946 А Україна, МПК 7 А61К 39/116, 39/08, 39/114 “Вакцина «Некросан» асоційована інактивована концентрована проти некробактеріозу, некротичного гепатиту, злоякісного набряку та інфекційної (анаеробної) ентеро-

токсемії тварин”. / В. П. Риженко, А. Ф. Ображей, Г. Ф. Риженко, С. А. Дементьєва, В. В. Риженко, С. М. Бе-лік, І. В. Галка. Опубл. 15.03.2006 Бюл.№3. – 6 с.

6. Патент 18334 А Україна, МПК 7А61К 39/00. “Вакцина „Некросан-2” асоційована інактивована концентрована проти некробактеріозу (фузобактеріозу), некротичного гепатиту, злякисного набряку, інфекційної (анаеробної) ентеротоксемії та колібактеріозу тварин”. / В. П. Риженко, Г. Ф. Риженко, С. А. Дементьєва, С. М. Бе-лік, П. П. Каменчук, Н. М. Хмельницька. Опубл. 15.11.2006 Бюл.№11. – 6 с.

7. Патент № 50014 Україна, МПК (2010) G01N33/00 „ Вакцина “Некросан-3” асоційована інактивована концентрована проти копитної гнилі, некробактеріозу (фузобактеріозу), інфекційної (анаеробної) ентеротоксемії та кокових інфекцій тварин” / В. П. Риженко, А. Ф. Ображей, Г. Ф. Риженко, О. І. Горбатюк, В. О. Андріящук, Л. С. Мілько, С. М. Белік; ІВМ УААН. – заявл. 30.10.2009; опубл. 25.05.2010. Бюл. №8. – 6 с.

8. Патент 18335 А Україна, МПК 7А61К 39/00. “Вакцина „Некросальм” асоційована інактивована концентрована проти некробактеріозу (фузобактеріозу), колібактеріозу та сальмонельозу тварин”. / В. П. Риженко, Г. Ф. Риженко, О. О. Кучерявенко, С. А. Де-ментьєва, В. О. Андріящук, І. В. Галка, О. М. Жовнір. Опубл. 15.11.2006 Бюл. №11. – 6 с.

9. Патент 18332 А Україна, МПК 7А61К 39/00. “Вакцина „Некроколісальм” асоційована інактивована концентрована проти некробактеріозу (фузобактеріозу), колібактеріозу та сальмонельозу тварин”. / В. П. Риженко, Г. Ф. Риженко, О. О. Кучерявенко, С. А. Дементьєва, В. О. Андріящук. Опубл. 15.11.2006 Бюл.№11. – 6 с.

10. *Кравцова О. Л.* Біохімічні властивості збудника актинобацильозу великої рогатої худоби // Ветеринарна біотехнологія. К.: Бюл./ – №4. – 2004. – С. 102–106.

11. *Риженко В. П.* Імунопрофілактика актинобацильозу / В. П. Риженко, В. М. Суляєв, В. М. Коновальчук, А. В. Фролов // Ветеринарна медицина України. – №8. – 1999. – С. 19.

12. Патент 12949 Україна, МПК 61К 39/102, 39/116 . “Вакцина „Актиносан” асоційована інактивована концентрована проти актинобацильозу тварин”. / В. П. Риженко; ІВМ НААН – №U200506745; Заявлено 11.07.2005. Бюл.№3, 2006. – 6 с.

13. *Риженко В. П.* Методичні рекомендації з діагностики актинобацильозу (лігнієріозу) тварин для спеціалістів ветеринарної медицини, науковців та студентів/ В. П. Риженко, Г. Ф. Риженко, О. І. Горбатюк та ін. – Київ, 2008. – С. 29.

14. Патент 25635 А Україна, МПК 7А61К 39/114, 39/00. “Вакцина „Фузоактиносан” інактивована концентрована асоційована проти некробактеріозу (фузобактеріозу) і актинобацильозу тварин”. / В. П. Риженко, Г. Ф. Риженко, О. О. Кучерявенко, В. О. Андріящук, І. В. Галка, В. В. Риженко; ІВМ НААН. – № U200704644; Заявлено 26.04.2007. Бюл. №12.

15. *Рудой О. В.* Особливості перебігу інфекційного процесу у тварин хворих на актинобацильоз (лігнієріоз) / О. В. Рудой // Ветеринарна біотехнологія. К.: Бюл./ – №21. – 2012. – С. 50–55.

ОБОСНОВАНИЕ РАЗРАБОТКИ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВАКЦИНЫ АССОЦИИРОВАННОЙ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ДЛЯ ОДНОВРЕМЕННОЙ ПРОФИЛАКТИКИ ФУЗОБАКТЕРИОЗА И АКТИНОБАЦИЛЛЁЗА ЖИВОТНЫХ – «ФУЗОАКТИНОСАН»/ В. П. Рыженко, Г. Ф. Рыженко, О. И. Горбатьюк, В. А. Андрияшук, А. В. Рудой, Л. С. Милько, О. Л. Кравцова

В статье освещено обоснование необходимости и возможности разработки ассоциированной инактивированной вакцины для одновременной профилактики фузобактериоза (некробактериоза) и актинобациллёза (лигниериоза) животных. Авторами разработана технология ее производства. Изготовлены 2 образца вакцины, проведены доклинические и производственные испытания. Установлена высокая эффективность вакцины «Фузоактиносан». На вакцину разработана нормативно-техническая документация, получен патент Украины.

Ключевые слова: фузобактериоз (некробактериоз), актинобациллёз (лигниериоз), вакцина, эффективность.

THE SUBSTANTIATION OF THE DEVELOPMENT AND EFFICACY OF THE ASSOCIATED INACTIVATED VACCINES FOR SIMULTANEOUS PROPHYLAXIS OF ANIMAL FUSOBACTERIOSIS AND ACTINOBACILLOSIS – “FUZOAKTINOSAN”/ V. P. Rigenko, G. F. Rigenko, O. I. Gorbatyuk, V. O. Andriyashuk, A. V. Rudoy, L. S. Milko, O. L. Kravtsova

The substantiation of development necessity and feasibility of the associated inactivated vaccine for simultaneous prevention of animal fuzobacteriosis (necrobacteriosis) and actinobacillosis (lignierioza) is shown in the article. The authors developed technology of the vaccine production. Two test samples of the vaccine was manufactured. Tere were conducted clinical and production tests. The high efficiency of the vaccine "Fuzoaktinosan" was detected. The normative documentation and technological regulations was created, the patent of Ukraine was received.

Key words: fusobacteriosis (necrobacteriosis), actinobacillosis (lignieriosis), vaccine, efficacy

Рецензент – кандидат ветеринарных наук О. А. Тарасов