

## **ВПЛИВ МЕТАБОЛІТІВ ВАКЦИННОГО ШТАМУ E. COLI IBM-1 НА ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН**

**Г.А. ЗАВІРЮХА**, кандидат сільськогосподарських наук

**Т.Б. ВАСИЛЬЄВА**, науковий співробітник

ДНУ «Державний центр інноваційних біотехнологій»

Представлені результати вивчення впливу метаболітів вакцинного штаму E. coli IBM-1 на білих мишах. Встановлено, що метаболіти E. coli IBM-1 нешкідливі для здоров'я лабораторних тварин і в складі вакцини Метакол потенціюють розвиток ГСТ, що свідчить про наявність у вакцини специфічних імуностимулюючих властивостей.

***Ключові слова:** E. coli IBM-1, метаболіт, лабораторні тварини, нешкідливість, гіперчутливість сповільненого типу.*

Розвиток тваринництва в Україні в сучасних умовах вимагає проведення ефективних заходів щодо запобігання захворюванням, надання своєчасної науково-обґрунтованої допомоги [1, 7, 12].

У господарствах України з настанням зимово-весняного періоду шлунково-кишкові хвороби телят набувають широкого розповсюдження. В цей період масові отелення, низька поживність раціонів тільних корів, недостатня санація родильних приміщень і профілакторіїв сприяють виникненню шлунково-кишкових захворювань, які реєструють у 80-100% новонароджених телят, з них гине 25-30% [2, 4, 5].

Своєчасна профілактична вакцинація специфічними засобами захисту створює підґрунтя для успішного ведення тваринництва. Розробка ефективних, нешкідливих засобів актуальна і в сучасних умовах господарювання.

На основі штамів E. coli, наділених адгезинами та ентеротоксинами, останні десятиріччя здійснювались інтенсивні дослідження із створення

протиколібактеріозних вакцин з основним колонізуючим фактором K-99 [3]. Перевагу ефективності рекомбінантних вакцин над природними відзначали багато дослідників. Конструювання вакцин на основі адгезинів та ентеротоксинів є перспективним напрямом. Такі вакцини високо імуногенні, забезпечують стабільний захист телят, отриманих від щеплених матерів, від зараження збудником *E. coli* [6, 7, 8, 11].

**Мета дослідження** – вивчення впливу метаболітів вакцинного штаму *E. coli* IBM-1, на організми лабораторних тварин – білих мишей.

**Матеріали і методи досліджень.** Досліджували мікробні клітини вакцинного штаму *E. coli* IBM-1 та продукт їх життєдіяльності – екзотоксин. Вакцинний штам збудника колібактеріозу *E. coli* IBM-1 одержаний з колекції мікроорганізмів ДНУ «Державний центр інноваційних біотехнологій», робота з яким проводиться з 1989 р. під керівництвом академіка НААН А.І. Завірюхи. Екзотоксин штаму *E. coli* IBM-1 отриманий шляхом фільтрації через бактеріальні фільтри марки F 5.

Екзотоксин мікроба отримали під час його вирощування у рідкому поживному середовищі протягом 48 год. Після фільтрації через бактеріологічну свічку марки F5 та перевірки щодо контамінації грибковою і бактеріальною мікрофлорою, визначали його нешкідливість. Фільтрат вводили білим мишам підшкірно в дозі 0,2 см<sup>3</sup>. Для проведення реакції гіперчутливості сповільненого типу, метаболіт у складі Метаколу у дозі 0,4 см<sup>3</sup> вводили внутрічеревно білим мишам.

Наявність специфічних властивостей вивчали за допомогою реакції гіперчутливості сповільненого типу (ГСТ), яка виникає через деякий час після повторного введення антигена. Ця реакція виникає лише до того антигена, який спричинив її розвиток [8, 9, 10]. Дослідний фільтрат отримували фільтруванням через бактеріальні фільтри. Стерильність фільтрату визначали за ДСТУ 4483:2005, дослідження нешкідливості проводили випробуванням на лабораторних тваринах, за ГСТУ 46.024-2002.

**Результати досліджень.** Досліди розпочинали з отримання чистих робочих культур вакцинного штаму *E. coli* IBM-1. Культуру штаму висівали на середовище Ендо (№ 4). Чисту культуру виділяли за методом Дригальського.

Підготовлену культуру висівали на чашки Петрі з середовищем Ендо (№ 4), інкубували в термостаті за температури  $37\pm 1^\circ\text{C}$  впродовж 48 годин. Отримані культури змивали фізіологічним розчином у підготовлені стерильні ємності, підраховували кількість мікробних клітин в  $1\text{ см}^3$ . Загальна кількість їх становила 850 млн. мікробних клітин.

Отриману суспензію мікробних клітин висівали в рідке поживне середовище (поживний бульйон), яке інкубували 48 годин у термостаті за температури  $37\pm 1^\circ\text{C}$ . Після цього отримували екзотоксин за АС. № 1022362. СССР, який досліджували на стерильність за ДСТУ 4483-2002. Із зразка екзотоксину ( $50\text{ см}^3$ ) відбирали по  $0,1\text{ см}^3$ , висівали в 10 пробірок з ТГС з резазуріном для культивування при температурі  $-35^\circ\text{C}$  та в 10 пробірок з ТГС з резазуріном для культивування при температурі  $-25^\circ\text{C}$ . Перед застосуванням пробірки з ТГС з резазуріном витримували в термостаті при температурі  $35^\circ\text{C}$  – 10 діб для контролю придатності середовища. Десять пробірок з ТГС використовували для контролю при такому самому режимі культивування. Посіви витримували в термостатах 14 діб.

При візуальному дослідженні посівів на 1-, 4- і 14 - й день спостереження колір резазуріну не змінився. Середовище було без пластівців і помутніння.

Наявність подразнювальних властивостей метаболіту вакцинного штаму *E. coli* IBM-1 визначали за показником запального набряку після ін'єкції. Стерильний фільтрат культуральної рідини в об'ємі  $0,2\text{ см}^3$  вводили білим мишам масою 18-20г вводили у ділянку кореня хвоста.

Для досліду формували дослідну і контрольну групу по 10 тварин у кожній. Мишам контрольної групи вводили в такій самій дозі як і дослідної стерильний фізіологічний розчин, з дотриманням правил асептики і антисептики. На місці введення метаболіту не відзначали реакції (набряку, почервоніння), підвищення температури. За 10 діб спостереження всі піддослідні тварини залишились

живими. Екзотоксин вакцинного штаму *E. coli* IBM-1 був нешкідливим для лабораторних тварин.

Для вивчення специфічних властивостей метаболітів вакцинного штаму *E. coli* IBM-1 у складі вакцини Метакол використовували реакцію ГСТ (гіперчутливості сповільненого типу). Для цього сформували групи лабораторних мишей масою 16-18 г, по 10 тварин в кожній. Білим мишам у подушечку правої лапки вводили по 0,2 см<sup>3</sup> 10%-ної суміші відмитих еритроцитів барана. Одночасно внутрічеревно кожній тварині вводили вакцину Метакол у дозі 0,4 см<sup>3</sup>. На 5-й день в подушечку лівої лапки вводили 10%-у суміш еритроцитів барана. Через 24 год після ін'єкції проводили облік реакції за різницею в товщині лапок (мм). Результати спостереження наведено в таблиці. У тварин контрольної і дослідної груп виявлена суттєва статистично достовірна різниця в інтенсивності реакції ГСТ (контроль – 0,28±0,08, дослід – 0,74±0,076). Повторне введення у ліву лапку мишей суспензії еритроцитів барана через 24 год після імунізації вакциною спричиняло у них розвиток реакції ГСТ.

**Результати проведення реакції гіперчутливості сповільненого типу у мишей до тест-антигена (еритроцити барана) під впливом вакцини Метакол**

Номер тварини	Контрольна група			Дослідна група		
	товщина правої лапки, мм	товщина лівої лапки, мм	інтенсивність реакції, мм	товщина правої лапки, мм	товщина лівої лапки, мм	інтенсивність реакції, мм
1	1,6	1,9	0,3	2,0	2,9	0,9
2	1,6	1,9	0,3	1,8	2,9	1,1
3	1,6	1,9	0,3	2,0	2,5	0,5
4	1,5	1,7	0,2	1,9	2,9	1,0
5	1,5	1,8	0,3	2,0	2,5	0,5
6	1,8	2,0	0,2	2,0	2,9	0,9
7	1,6	1,9	0,3	1,9	2,8	1,9
8	1,7	2,0	0,3	1,9	2,5	0,6
9	1,6	1,9	0,3	2,0	2,5	0,5

10	1,6	1,9	0,3	2,0	2,5	0,5
M±m			0,28±0,08			0,74±0,076

\* $p \leq 0,01$ , порівняно з контрольною групою

Найбільша різниця між товщиною обох лапок мишей у дослідній групі становила 1,9 мм, а в контрольній – 0,3 мм. Отже, після введення мишам вакцини Метакол, потенціюється розвиток ГСТ, що свідчить про наявність у вакцини специфічних імуностимулюючих властивостей. Проведена реакція є зручним тестом для вивчення впливу вакцини на клітинний фактор імунітету.

### ВИСНОВКИ

1. Метаболіти вакцинного штаму *E. coli* IBM-1 нешкідливі для лабораторних мишей. Після введення екзотоксину всі тварини залишаються живими, на місці введення відсутні набряк, почервоніння та підвищення температури.
2. Отриманий екзотоксин відповідає вимогам ДСТУ 4483:2005.
3. Метаболіти вакцинного штаму *E. coli* IBM-1 у складі вакцини Метакол спричиняють реакцію гіперчутливості сповільненого типу.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бабинін О. Визначення економічних збитків при загибелі тварин / О.Бабинін, О. Астахова // Ветеринарна медицина України. – 2004. – №1. – С. 22.
2. Влияние сезонности на естественную резистентность организма коров-матерей и приплода / [В.Н. Денисенко, О.Н. Грызлова, Г.Н. Печников, П.А. Емельяненко] // Ветеринария. – 1987. – № 12. – С. 53 - 56.
3. Головка А.Н. Оценка иммунитета у коров после применения вакцины содержащей адгезивный антиген *E. coli* K 99 / А.Н. Головка, Г.В. Гнатенко // Ветеринария. – К.: Урожай, 1989. – Вып. 64. – С. 7 – 10.

4. Зароза В.Г. Колибактериоз новорожденных телят: Обзорная информация / В.Г. Зароза. – М.: НИИТЭИагропро, 1995. – 56 с.
5. Зароза В.Г. Профилактика и лечение желудочно-кишечных болезней новорожденных телят/В.Г. Зароза. – М.: ВНИИТЭИагропром. – 1989. – 57 с.
6. Зароза В.Г. Эшерихиоз телят / В.Г. Зароза. – Агропомиздат, 1991. – 238 с.
7. Клестова З. Нові проблеми сучасного свинарства / З. Клестова // Ветеринарна медицина України. – 2000. – №8. – С.27.
8. Коротяев А.И. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология: учебник [для медицинских вузов] / А.И. Коротяев, С.А. Бабичев. – Санкт-Петербург: Специальная литература, 1999. – 580 с.
9. Клиническая иммунология и аллергология / [под ред. Г. Лолора-младшего, Т. Фишера, Д. Адельмана]. – М.: Практика, – 2000. – 806 с.
10. Спивак Н.Я. Интерферонпродуцирующая способность лимфоидных клеток свиней. / Н.Я. Спивак // . – К.: Наукова думка. – 1980.– С. 236-242.
11. Федоров Ю.Н. Факторы иммунологической защиты у новорожденных животных / Ю.Н. Федоров // Бюл. ВИЭВ. – 1982.– Т. 47. – С. 60 – 65.
12. Щербаков П.Н. Профилактика и лечение при желудочно-кишечных и респираторных болезнях телят / П.Н. Щербаков, А.Г. Гусев // Ветеринария. – 2002. – № 3.– С. 15 – 16.

## **ВЛИЯНИЕ МЕТАБОЛИТОВ ВАКЦИННОГО ШТАММА E. COLI IBM-1 НА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ**

*А.А. ЗАВИРЮХА, Т.Б. ВАСИЛЬЕВА*

Представлены результаты изучения влияния метаболитов вакцинного штамма E. coli IBM-1 на белых мышей. Установлено, что метаболиты E. coli IBM-1 безвредны для здоровья лабораторных животных, и в составе вакцины Метакол потенцируют развитие ГСТ, что свидетельствует о наличии у вакцины специфических иммуностимулирующих свойств.

*Ключевые слова: E. coli IBM-1, метаболит, лабораторные животные, безвредность, гиперчувствительность замедленного типа.*

**STUDY EFFECT OF METABOLITES VACCINE STRAIN  
E. COLI IBM-1 ON LABORATORY ANIMALS**

A.A. ZAVIRIUHA, T.B. VASILEVA

The results of studying the influence of metabolites of vaccine strain of E. coli IBM-1 in white mice. Found that metabolites of E. coli IBM-1 harmless to the health of laboratory animals in the vaccine "Metakol" potentiate the development of the GTS, which indicates the presence of a vaccine specific immune stimulatory properties.

*Key words: E. coli IBM-1, metabolite, laboratory animals, safety, delayed-type hypersensitivity.*