Дослідження впливу ад'ювантів на фізичні властивості інактивованої вакцини проти хвороби Ньюкасла

[1,2]Чегринець А.І., [1]Салій О.О., [1]Любецький О.В.

[1]ТОВ «БІОТЕСТЛАБ», м. Київ

[2]Кафедра біотехнології та мікробіології

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

a_chegrynets@biotestlab.net

Актуальною задачею при розробці високоефективних інактивованих вакцин для птахівництва є дослідження впливу інактивантів та масляних ад'ювантів, оскільки саме ці компоненти відіграють ключову роль в збереженні активності вірусу та здатності при введені в організм птиці у складі вакцини, викликати стійкий та напружений імунітет [1]. Для підвищення імуногенних та фізичних властивостей при виробництві інактивованих вакцин використовуються різні ад'юванти, але визначено, що найбільш імуногенним являється додавання до складу масляної фази мінеральної олії [2]. Ад'ювантна частина (масляна фаза) зазвичай складається із декількох компонентів (суміш мінерального масла з емульгаторами), яка готується перед виробництвом вакцини, але на сьогодні альтернативою є використання готових сумішей таких як, виробництва Seppic, Франція, що складається з природньої олії та емульгатора високого очищення. Метою дослідження було визначення фізичних властивостей емульсій за показниками «В'язкість» та «Стабільність емульсії», виготовлених на різних ад'ювантах.

Матеріали та методи. Досліджували ад'ювант, приготований з мінерального масла Parafluid в суміші з емульгаторами (Span-80 та Tween-80) та готовий ад'ювант для виробництва вакцин Montanide ISA 70. Масляні ад'юванти змішували з водною фазою (інактивований антиген хвороби Ньюкасла виробництва ТОВ «БІОТЕСТЛАБ») у співвідношенні, що забезпечує утворення стійкої емульсії зворотного типу. Змішування проводили з використанням лабораторного диспергатора IKA ULTRA-TURRAX T 18 basic, при 400 rpm близько однієї хвилини для утворення предемульсії, а потім протягом п'яти хвилин при 3000 rpm для утворення емульсії.

Визначення типу емульсії проводили методом «крапля у воді». Стабільність емульсії перевіряли центрифугуванням при 3000 rpm протягом 20 хвилин. Кінематичну в'язкість вимірювали з використанням капілярного скляного віскозиметру ВПЖ-4.

Результати та їх обговорення. При виготовленні дослідних зразків емульсії співвідношення компонентів масляної та водної фази було підібрано експериментальним

шляхом для забезпечення утворення стійкої емульсії зворотного типу (вода в маслі (В/М), та досягнення показників «В'язкість» та «Стабільність емульсії» в межах встановлених норм.

Фізичні характеристики виготовлених зразків вакцини наведені у таблиці 1.

Таблиця 1

Результати досліджень показників «В'язкість» та «Стабільність емульсії» зразків вакцини, виготовленої з використанням різних ад'ювантів

№ зразку	Ад'ювант	Співвідношення масляної та водної фаз	Термін спостереження	Тип емульсії	В'язкість	Стабільність емульсії
1	Montanide ISA 70	70/30	0 діб	В/М	40мм^2/с	Витримує
			180 діб	В/М	40 мм^2/с	Витримує
2	Parafluid+ Span-80 + Tween-80	60/40	0 діб	В/М	79мм^2/с	Витримує
			180 діб	В/М	102 мм^2/с	Спостерігається розшарування

При візуальній оцінці результатів через 180 діб (термін спостереження) було помічено, що зразок вакцини №1 не змінив своїх фізичних властивостей, в той час як зразок вакцини №2 знаходився в зміненому стані емульсії, що має назву «ситтінг», при якому вакцина розділена на дві фракції: верхню, більш прозору і більш рідку, та нижню (близько 1/3 об'єму) – більш густу. Цей стан є зворотнім та зумовлений використанням великої кількості дисперсної фази (антигену) при виготовленні вакцини. «Ситтінг» є оборотною зміною емульсії, яка легко повертається до вихідного стану шляхом змішування препарату струшуванням безпосередньо перед застосуванням.

Висновки. Застосування стандартизованого готового ад'юванту при виробництві вакцини має перевагу у зменшенні кількості технологічних операцій та тривалісті процесу виробництва порівняно з класичним ад'ювантом, та дозволяє отримати емульсію, стабільну протягом 180 днів без змін показників «В'язкість» та «Стабільність емульсії», але висока собівартість обмежує широке застосування у промисловому виробництві вакцини проти хвороби Ньюкасла.

Література:

1. Чегринець А. І. Дослідження впливу інактиванту на збереження активності вірусу хвороби Ньюкасла штаму "Ла-Сота" / А. І. Чегринець, О. О. Салій, Ф. Ф. Вабіщевич // Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин : матеріали щорічної науково-практичної конференції молодих вчених, м. Київ, 9 липня 2020 року. – Київ : ІВМ НААН України ; ЦП "Компринт", 2020. – С. 36.

2. Чегринець А. І. Результати використання ад'ювантів при виробництві інактивованих вакцин для ветеринарії / А.І. Чегринець, В.О. Красінько // Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті : матеріали 86 міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів, м. Київ, 2-3 квітня 2020 року. – К.: НУХТ, 2020р. – Ч.1 – с. 409.