

Розділ 5. Контролювання якості, випробування, стандартизація, сертифікація, маркетинг і провайдинг ветеринарних імунобіологічних препаратів

Одновременное введение сыворотки и ронколейкина – профилактирует возникновение вирусных болезней, сопровождающихся поражением желудочно-кишечного тракта в 100 % случаев. Раздельное применение сыворотки против вирусных пневмоэнтеритов телят или ронколейкина профилактирует заболевания в 60 % случаев.

Для профилактики вирусных пневмоэнтеритов у новорожденных телят, полученных от невакцинированных коров, применять гипериммунную сыворотку против вирусных пневмоэнтеритов в дозе 1 мл на кг живой массы и ронколейкин в дозе 0,1 мг (100000 ЕД) на голову. Наилучший эффект достигается при сочетанном применении препаратов. При отсутствии биопрепаратов применение ронколейкина обеспечивает достаточно высокий профилактический эффект.

Список литературы

1. Гречухин, А.Н. Ронколейкин® – при вирусных респираторных болезнях телят / А.Н. Гречухин, Е.Н. Гречухин, М.В. Островский // Агро-Рынок. 2005. № 7. С. 38-39. 2. Зелютков, Ю.Г. Болезни крупного рогатого скота и свиней / Ю.Г. Зелютков, А.И. Ятусевич, П.А. Красочко // Минск: Технопринт, 2003. – 462 с. 3. Никитина, Т.Н. Иммуноадьювантное действие цитокинов / Т.Н. Никитина, Ж.И. Авдеева // БИОпрепараты. 2008. № 1 (29). С. 16-20. 4. Островский, М.В. Иммунотерапия телят / Животноводство России. 2007: № 2. С. 49-50.

SPECIFIC PREVENTIVE MAINTENANCE OF CALF PNEUMOENTERITIS OF VIRUS ETIOLOGY WITH USE OF RONCOLEUKIN

Bagretsov V.F., Konotop D.S., Kechko N.N.
Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine,

Ostrovskiy M.V.
Co LTD "Biotech", Sankt-Petersburg

Data concerning specific preventive maintenance of newborn calves pneumoenteritis of virus etiology with use of roncoleukin at absence of active immunization of calves are presented in the article.

УДК 619:616.98:579.843.95:616-091.8:636.5

ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ СУБОДИНИЧНОЇ ВАКЦИНИ ПРОТИ ПАСТЕРЕЛЬОЗУ ПТИЦІ

Біла Н.В.

*Дніпропетровська дослідна станція Національного наукового центру
«Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Дніпропетровськ*

Характерною особливістю сучасних птахівничих господарств промислового типу є вузька спеціалізація виробництва, використання високопродуктивних кросів птиці, висока концентрація поголів'я на обмежених територіях. В таких умовах навіть при незначному порушенні оптимальних зоотехнічних і ветеринарно-санітарних умов утримання і годівлі птиці відбувається інтенсивне накопичення патогенної й умовно-патогенної мікрофлори у повітрі та на об'єктах пташника, що призводить до зниження рівня нормальної флори і негативно впливає на природну резистентність організму птиці [3].

Емульсійні вакцинні препарати, які застосовуються на сучасний момент, переважають за імуногенністю сорбовані, однак основною перешкодою їх широкого використання є висока в'язкість, яка ускладнює введення при масовій обробці птиці, та висока реактогенність. Тому проведення робіт з удосконалення і створення нових інактивованих вакцин проти пастерельозу є актуальною задачею, яка має наукове і практичне значення [1].

Встановлено, що найбільш ефективні протибактеріальні вакцини можуть бути створені із використанням масляно-емульсійних ад'ювантів нового покоління, які забезпечують більш тривалий і напружений імунітет [2, 4].

Виходячи із вищенаведеного, дослідження з удосконалення системи профілактики бактеріальних хвороб птиці і створення ефективних засобів їх специфічного захисту є актуальним.

Мета досліджень: визначити ефективність захисту птиці при використанні субодичної інактивованої вакцини проти пастерельозу.

Матеріал і методи досліджень. З метою визначення оптимальної імунізуючої дози субодичної вакцини проти пастерельозу птиці було використано каченя 22-денного віку, сформовано 5 груп (n=5) за принципом пар аналогів. Чотири дослідні та одна контрольна групи, по 10 голів у кожній.

Від птахів усіх дослідних та контрольної груп на початку досліджу, а потім з інтервалом 7, 14, 21, 28, 35 днів відібрана кров для проведення біохімічних досліджень, а саме: визначено вміст загального білка, білкових фракцій.

Сироватки крові птиці досліджені у РА для визначення специфічних титрів антитіл до *Pasteurella multocida*.

Визначення білкових фракцій у сироватці крові здійснювалось фотоелектроколориметром ФЕК-56М згідно з «Методичними вказівками щодо використання методів біохімічних досліджень біологічного матеріалу в державних лабораторіях ветеринарної медицини при захворюваннях не інфекційної патології».

Кількість загального білка визначалась за допомогою набору реактивів виробництва «Реагент» (Україна).

Напруженість імунітету проти пастерельозу буде визначатись за результатами серологічних досліджень і шляхом прямого зараження підтитрованою летальною дозою бульйонної культури вірулентного контрольного штаму пастерел.

Враховуючи результати визначення впливу ад'ювантів на імуногенні властивості вакцини, використали найбільш ефективне співвідношення антигену та ад'юванту Montanide ISA 70 у співвідношенні 1:2 за дози щеплення 0,5 см³.

З метою випробування ефективності субодичної вакцини проти пастерельозу птиці дослідження проводили на клінічно здорових каченятах 20-добового віку (n=30). Було сформовано дослідну та контрольну групи по 15 голів у кожній. Птицю імунізовано дворазово внутрішньом'язево в дозі 0,5 см³ субодичною вакциною проти пастерельозу птиці з ад'ювантом Montanide ISA 70 при співвідношенні його з антигеном 1:2: перша вакцинація у 22-добовому віці; друга вакцинація у 32-добовому віці каченят.

Через 21 добу після другого щеплення каченята дослідної та контрольної груп були заражені в грудний м'яз 24 часовою бульйонною культурою в концентрації 1 X 10⁸ м. к. / см³. Вакцина буде вважатись імуногенною, якщо протягом 7 днів не менш, як 90 % вакцинованої птиці залишиться живою на відміну від 100 % загибелі птиці в контрольній групі.

Результати досліджень та їх аналіз. На першому етапі визначали оптимальну імунізуючу дозу субодичної вакцини проти пастерельозу птиці.

Отримані результати свідчать про те, що введення субодичної вакцини проти пастерельозу птиці у дозі 0,2 см³ дещо посилювало процеси імуногенезу до бактерії *Pasteurella multocida*, але повністю не забезпечувало надійний захист від хвороби (середні титри специфічних антитіл коливались від (3,6 ± 0,24) до (4,2 ± 0,33) log₂ при до імуноному рівні (1,4 ± 0,23) log₂).

При введенні субодиночної вакцини проти пастерельозу птиці у дозі 0,5 см³ та 1 см³ реєстрували статистично достовірне збільшення рівня антитілоутворення до *Pasteurella multocida* починаючи з 7 доби після вакцинації (становив у другій групі – (5,4 ± 0,31) log₂, третій (5,5 ± 0,23) log₂ з досягненням максимальних показників на 14 добу (відповідно до: (6,5 ± 0,30) log₂ та (6,8 ± 0,22) log₂).

Таблиця 1 – Динаміка імунної відповіді птиці на введення різних доз субодиночної вакцини проти пастерельозу птиці (середні титри специфічних антитіл, log₂)

Термін спостереження, доба	Групи			
	Перша (доза 0,2 см ³)	Друга (доза 0,5 см ³)	Третя (доза 1,0 см ³)	Четверта (контроль)
до імунізації	1,4 ± 0,23	1,2 ± 0,19	1,4 ± 0,20	1,5 ± 0,22
7	3,6 ± 0,24	5,4 ± 0,31	5,5 ± 0,23	1,7 ± 0,29
14	4,1 ± 0,22	6,5 ± 0,30	6,8 ± 0,22	2,1 ± 0,26
21	4,0 ± 0,28	6,3 ± 0,27	6,4 ± 0,36	1,8 ± 0,28
28	4,2 ± 0,33	6,3 ± 0,31	6,5 ± 0,32	1,7 ± 0,25
35	3,9 ± 0,29	6,4 ± 0,34	6,2 ± 0,27	1,9 ± 0,23

Як свідчать результати досліджень у подальшому зазначені дози вакцини забезпечували високий рівень імунітету проти пастерельозу, середній рівень антитіл при введенні дози 0,5 см³ коливався на рівні (6,3 ± 0,27) – (6,5 ± 0,30) log₂, дозі 1,0 см³ – (6,2 ± 0,27) – (6,8 ± 0,22) log₂. Враховуючи, що статистично вірогідної різниці рівня антитілоутворення при застосуванні субодиночної вакцини проти пастерельозу птиці виявлено не було, вважаємо за доцільне рекомендувати для застосування дозу 0,5 см³.

Аналіз виробничої апробації субодиночної вакцини проти пастерельозу птиці свідчить про відсутність негативного впливу на організм при вираженій антигенній активності та індукуванні в організмі щепленої птиці утворення специфічних антитіл. Динаміка формування імунітету представлена в таблиці 2.

Таблиця 2 – Рівень специфічних антитіл у сироватці крові щепленої птиці (титр антитіл в log₂, M±m)

Група	Період дослідження після вакцинації, діб				
	7	28	45	60	90
дослідна	5,1±0,2	6,5±0,3	6,9±0,2	6,8±0,1	6,8±0,2
контрольна	0	0	0	0	0

Рівень гамаглобулінів у сироватці крові щепленої птиці на 25 добу становив 12,23 ± 0,93 г/л, проти 6,96 ± 0,64 г/л у контролі (P<0,05) (рис. 1). Таким чином, під впливом субодиночної вакцини проти пастерельозу птиці, відбувався перерозподіл фракцій загального білка в бік збільшення синтезу гамма-глобулінів.

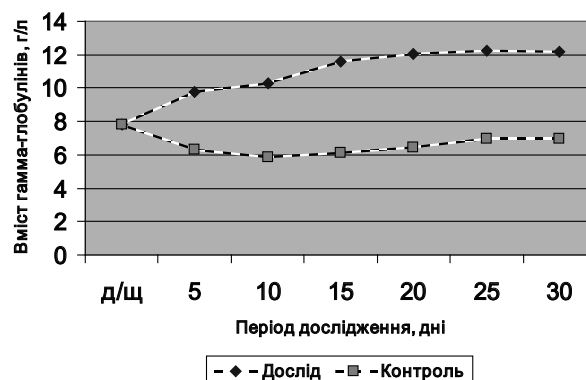


Рис. 1 Динаміка рівня гамма-глобулінів після щеплення субодиночною вакциною проти пастерельозу птиці

Таким чином, вакцина була антигенно-активною, формувала напружений імунітет після щеплення протягом всього періоду спостереження. Дослідження імунобіохімічних показників сироватки крові птиці показали, що під впливом субодиночної вакцини проти пастерельозу концентрація загального білка підвищилась на 10,45 %.

У птиці контрольної групи впродовж періоду спостережень встановлена тенденція до зниження вмісту гамма-глобулінів сироватки крові, тоді як у сироватки крові вакцинованої птиці встановлено статистично достовірне збільшення концентрації даної фракції загального білка, починаючи з 5 дня після щеплення.

У часовому аспекті було вивчено прояв місцевих реакцій на внутрішньом'язове введення субодиночної вакцини проти пастерельозу птиці. Контроль клінічного стану птиці у ході експерименту не виявив суттєвих відхилень загального характеру. Після закінчення експерименту провели діагностичний забій дослідної птиці з візуальним оцінюванням місцевої реакції в ділянці ін'єкції вакцини. Встановлено, що при застосуванні субодиночної вакцини проти пастерельозу місцеві реакції були мінімальними. Було виявлено збліднення тканин на площі 0,2-0,4 см², відсутність запальної реакції та інкапсульованих залишків вакцини.

Висновки.

1. Оптимальний рівень антитілоутворення до *Pasteurella multocida* отримано при застосуванні субодиночної вакцини проти пастерельозу в дозі 0,5 см³.

2. Виробнича апробація субодиночної вакцини проти пастерельозу птиці при дворазовому введенні з інтервалом 10 діб забезпечує виражений захист при відсутності негативного впливу на організм.

Розділ 5. Контролювання якості, випробування, стандартизація, сертифікація, маркетинг і провайдинг ветеринарних імунобіологічних препаратів

Список літератури

1. Бородина, О.В. Разработка инактивированной эмульсионной вакцины против пастереллеза птиц. – дисс.канд.биол. наук: 03.00.07, 03.00.23. – Ульяновск, 2005. – 121 с. 2. Назаров, Шамсулло Химатович. Лечебно-профилактическая эффективность препарата САП-2 при пастереллезе птиц: диссертация ... кандидата ветеринарных наук : 16.00.03 – Душанбе, 2004. – 111 с. 3. Рождественская, Т.Н. Метод контроля бактериальной инфицированности птиц / Борисенкова А.Н., Рождественская Т.Н., Новикова О.Б., Чавгун В.А. // РацВетИнформ. – 2004. – № 10. – С. 6-7. 4. Hall, W.J., Heddlestone, K.L., Legenhausen, D.H. et al. 1955. Studies on Pastererellosis: I. A new species of Pasterella encountered in chronic fowl cholerae. Am. J. Vet. Res. 16:598-604

EFFICIENCY OF APPLICATION OF SUBUNIT VACCINE AGAINST AVIAN PASTEURELLOSIS

Bila N.V.

Dnipropetrovs'k Research Station of the National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine"

The optimal level of antibody formation to Pasteurella multocida is got at application of subunit vaccine against pasteurellosis in the dose of 0,5 cm³. Productive approbation of subunit vaccine against avian pasteurellosis at double introduction with an interval a 10 days provides the expressed defense in default of negative influence on an organism.

УДК 619:616.98:579.873.21

ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ТУБЕРКУЛІНУ СУХОГО ОЧИЩЕНОГО (ППД) ДЛЯ ССАВЦІВ

Білушко В.В.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

Важливим етапом контролювання якості виготовлення туберкуліну є визначення біологічної активності. Міжнародні або національні стандарти біологічних препаратів застосовуються в тих випадках, коли неможливо отримати вичерпної інформації щодо якості цих речовин за допомогою хімічних і фізичних методів або ці методи є недоступними через їх дорожнечу. У такому разі придатність препаратів перевіряється за допомогою біологічних тест-систем, за допомогою яких здійснюється оцінка дослідного препарату в порівнянні зі стандартом встановленої активності [1, 2].

Щодо діагностичних мікобактеріальних біопрепаратів, які застосовуються для виявлення хворих на туберкульоз тварин, то як основний контроль, за вимогами МЕБ передбачається тест на розвиток у тварин реакції гіперчутливості сповільненого типу (ГЧСТ) при внутрішньошкірному введенні туберкуліну. Однією з головних характеристик якості туберкуліну є біологічна активність, що умовно визначається в міжнародних одиницях дії (МО). Активність визначається порівнянням дослідних зразків туберкуліну з міжнародним стандартом або з національним стандартом, відкаліброваним відносно міжнародного стандарту [3].

Уперше в світі міжнародний стандарт, спочатку для АТК (альтутуберкуліну Коха) був виготовлений у Лондоні і затверджений в 1928 році Організацією охорони здоров'я при Лізі Націй. Біологічна активність цього препарату становила 100 000 IU (International Unit) в 1,0 см³ алергену. У подальшому, другий і третій міжнародні стандарти для АТК були виготовлені в Копенгагені (Данія) у 1935 і 1965 рр.

Застосування ППД-туберкуліну, як діагностичного препарату, вимагало створення міжнародного стандарту цього препарату. За основу було взято серію туберкуліну, що виготовлена Seibert у 1940 р. з мікобактерій збудника туберкульозу виду *M. tuberculosis* шляхом хімічного осадження білка за допомогою сульфату амонію. Стандарт PPD-S був затверджений в 1951 році. За одиницю активності (туберкулінову одиницю – ТО, у подальшому – міжнародну одиницю (IU) стандарту прийнято 0,000028 мг активної речовини. Цей стандарт туберкуліну виготовляють в ампулах, які містять по 500 000 IU (10,0 мг PPD і 4,0 мг % буферних солей) [4].

Основною вимогою для стандартизації туберкуліну є біологічна реакція, інтенсивність якої залежить від кількості активної субстанції, що застосована для цього [3, 5].

Національний інститут біологічних стандартів і контролю (NIBSC) у м. Вейбриджі (Великобританія) забезпечує для калібровки національних зразків діагностичних препаратів міжнародними стандартами інші країни, в тому числі й туберкуліном очищеним (ППД) для ссавців [6, 7].

В Україні, для проведення стандартизації туберкуліну для ссавців, використовують спеціально відібрану серію рідкого «Туберкуліну очищеного (ППД) для ссавців у стандартному розчині», яку виготовляють за технологією, розробленою ННЦ «ІЕКВМ» на Державній Сумській біологічній фабриці [8]. У зв'язку з цим, з метою отримання власного національного стандарту туберкуліну для ссавців з більш стабільними властивостями в ННЦ «ІЕКВМ» розроблено технологію виготовлення сухого (ліофілізованого) ППД-туберкуліну для ссавців, який зберігає біологічну активність і специфічність впродовж значно більшого терміну (4-5 років) ніж туберкулін, що виготовляється у стандартному розчині (2 роки). Тому метою даної роботи було дослідження діагностичної ефективності виготовлених серій туберкуліну сухого очищеного (ППД) для ссавців.

Матеріали та методи. Дослідження діагностичної ефективності 3-х дослідно-виробничих серій (С-1, С-2, С-3) «Туберкуліну сухого очищеного (ППД) для ссавців», виготовленого за технологією, розробленою ННЦ «ІЕКВМ», в умовах Державної Сумської біологічної фабрики проведені на клінічно здоровій великій рогатій худобі (бички віком 8-12 міс., масою 180-250 кг (Усього 35 голів)) у благополучному щодо туберкульозу тварин господарстві.

Вивчення біологічної активності проводили на 20-ти клінічно здорових, не реагуючих на туберкулін для ссавців, бичках, що раніше не використовувались в дослідгах і попередньо (за 30 діб) сенсibilізованих зависсо живої культури вакцинного штаму VCG (гомологічна система) у дозі 5,0 мг бактеріальної маси в 1,0 см³ стерильного ізотонічного розчину. Реактогенність вивчали на 15-ти клінічно здорових бичках, яким не вводили культуру вакцинного штаму VCG. Біологічну активність і реактогенність виготовлених серій алергену порівнювали з контрольною серією Національного стандарту України «Туберкуліну очищеного (ППД) для ссавців у стандартному розчині» – серія № 5.

Алергени вводили внутрішньошкірно в депільовані й оброблені 70%-им етиловим спиртом ділянки шкіри в області середньої третини шиї за допомогою ін'єктору «БІ-7» у дозі 5000 МО в об'ємі 0,1 см³: з лівої сторони – на відстані 10-15 см між місцями введення – три дослідні серії туберкуліну, а з правої сторони – контрольну серію № 5 (національний стандарт). Облік алергічних реакцій у тварин проводили через 72 години після введення алергенів шляхом визначення величини потовщення шкіри в місці ін'єкції препарату.

Маніпуляції з тваринами проводили керуючись принципами біоетики.