

НОВА ВАКЦИНА ПРОТИ ІНФЕКЦІЙНОГО РИНОТРАХЕЇТУ, ПАРАГРИПУ-3 ТА ВІРУСНОЇ ДІАРЕЇ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

О. О. Напненко

Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів

У статті висвітлено результати комісійних випробувань «Вакцини інактивованої проти інфекційного ринотрахеїту, парагрипу-3 та вірусної діареї великої рогатої худоби «БОВІСВАК-3», розробленої науково-дослідним підприємством ТОВ «НДП Ветеринарні біотехнології». Випробування виконували згідно чинних в Україні нормативних документів, що стосуються виробництва та контролю якості ветеринарних імунобіологічних засобів за методикою розглянутою та схваленою науково-методичною комісією ДНКІБШМ. Результати випробувань свідчать про високу антигенну активність та безпечність нової вакцини, що підтверджено лабораторними дослідженнями та в умовах господарства. На підставі отриманих результатів вакцина зареєстрована в Україні та може бути використана для щеплення великої рогатої худоби.

Інфекційний ринотрахеїт (ІРТ), парагрип-3 (ПГ-3) та вірусна діарея великої рогатої худоби (ВД ВРХ) мають дуже великий ареал поширення та наносять значних збитків скотарству світу [1 - 5]. Одним із основних заходів запобігання поширенню цих хвороб є поголівна вакцинація ВРХ. Багато вітчизняних вчених присвятили свою діяльність вивченню вірусних респіраторних хвороб худоби в тому числі розробці засобів профілактики ІРТ, ПГ-3 та ВД ВРХ [1 - 8]. В Україні вченими було розроблено вакцини проти вказаних хвороб, як моновалентні, так і асоційовані, які свого часу з успіхом застосовували у скотарстві [6 - 8]. Проте, незважаючи на значні успіхи у цій сфері діяльності, ці хвороби є актуальними і сьогодні, а боротьба з ними та їх профілактика є однією з основних задач ветеринарної медицини.

Метою цієї роботи було випробування експериментальної серії «Вакцини інактивованої проти інфекційного ринотрахеїту, парагрипу-3 та вірусної діареї великої рогатої худоби «БОВІСВАК-3», розробленої науково-дослідним підприємством ТОВ «НДП Ветеринарні біотехнології».

Матеріали і методи. Випробування здійснювали на підставі наказу директора ДНКІБШМ № 19 від 16.04.2014 р. згідно з методикою, розглянутою та схваленою науково-методичною комісією ДНКІБШМ, протокол №2 від 10.04.2014 р.

Випробування виконали за такими показниками якості: зовнішній вигляд, колір, маркування; наявність сторонніх домішок (плісняви, осаду, що не розбивається), порушення закупорювання та тріщин флаконів; концентрація водневих іонів (рН); стерильність; нешкідливість; антигенна активність; повнота інактивації та вміст вільного формальдегіду.

Усі методи досліджень виконували згідно з чинними нормативними документами: ДСТУ 4483: 2005, ДСТУ 4614: 2006, СОУ 85.20-37-391.

Дослідження на наявність антитіл до інфекційного ринотрахеїту (ІРТ) і вірусної діареї (ВД) будуть проведені за допомогою імуноферментного аналізу (ІФА) за допомогою фотометра для мікропланшетів iMark виробництва BioRad. Виробник фірма IDEXX, Франція.

Серологічна діагностика на парагрип-3 ВРХ (ПГ-3) буде проведена в РЗГА, на інфекційний ринотрахеїт (ІРТ) - в РНГА з використанням діагностичних наборів, вироблених ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина».

Діагностичні набори ІФА, які були використані в роботі:

— «Infectious Bovine Rinotracheitis (IBR) Antibody Test Kit» для виявлення специфічних антитіл до збудника ІРТ у сироватці крові ВРХ;

— «Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) Antibody Test Kit» для виявлення специфічних антитіл до збудника ВД у сироватці крові ВРХ.

Для випробування нешкідливості вакцини було використано 10 дорослих білих мишей.

Для випробування антигенної активності виконали щеплення 5 морських свинок та 15 нетелів.

Визначення вмісту вільного формальдегіду у вакцині проводили на базі лабораторії відділу молекулярної біології та імунохімії ДНКІБШМ згідно з методикою описаною в Державній фармакопеї України п. 2.4.18.

Випробування виконували у ВБК ТОВ «НДП Ветеринарні біотехнології» в культурі клітин ПТ (клітини нирки телят) та в лабораторії відділу біотехнології та контролю якості вірусних препаратів ДНКІБШМ в культурі клітин Vero (клітини нирки зеленої мавпи).

Випробування виконали на базі лабораторій ДНКІБШМ та ТОВ «НДП Ветеринарні біотехнології». Нетелі, яких вакцинували експериментальною серією вакцини, належали СТОВ «Скіф» (Полтавська область).

Результати й обговорення. Перш за все було проведено оцінку зовнішнього вигляду та маркування вакцини. Визначення зовнішнього вигляду, кольору, маркування проводили візуально в пронизуючому світлі. Вакцина являє собою рідину рожевого кольору з пухким осадом білого кольору, який при збовтуванні легко розбивається у однорідну суспензію. Маркування відповідає макетам етикеток наведених в досьє та ДСТУ 4614: 2006. Сторонні домішки (пліснява, осад, що не розбивається), порушення закупорювання та тріщини флаконів відсутні.

Концентрацію водневих іонів визначали за допомогою рН-метра. Дослідження проводили на двох зразках препарату у відповідності до інструкції, що додавалась до приладу. Концентрація водневих іонів становила 7,2.

Одним із важливих показників безпечності вакцини є відсутність контамінації (стерильність). Дослідження відібраних зразків вакцини виконували в ДНКІБШМ та безпосередньо у виробника. В обох дослідах росту мікроорганізмів не спостерігали.

З метою визначення нешкідливості згідно з СОУ 85.20-37-391 вакцину вводили 10 білим мишам підшкірно в ділянці спини по 0,2 см³. За мишами спостерігали протягом 10 діб.

Усі миші впродовж дослідження були живі, без жодних ознак захворювання, місце введення вакцини за період спостереження залишалося без змін, що свідчить про нешкідливість вакцини.

Для визначення антигенної активності було сформовано групи тварин: морські свинки та нетелі. Для щеплення вакцину з 2-х флаконів об'єднали у одному стерильному флаконі й вводили внутрішньом'язово тваринам по 2 см³. Через 18 діб виконали повторне введення, а через 14 діб після повторного введення від усіх тварин одержали сироватку крові.

Проби сироватки крові досліджували окремо від кожної тварини. Результати випробування наведені у таблиці.

Ключ для інтерпретації результатів досліджень

ІРТ (ІФА)	S/P < 35 % — результат негативний
	35% ≤ S/P < 45% — результат сумнівний
	45% < S/P — результат позитивний
ВД (ІФА)	S/P < 0,20 — результат негативний
	0,20 ≤ S/P < 0,30 — результат сумнівний
	S/P ≥ 0,30 — результат позитивний
ПГ-3 (РЗГА)	1:20 — негативний
	1:40 і вище — позитивний
ІРТ (РНГА)	1:8 і вище — позитивний

Результати контролю антигенної активності

№ п/п	Види тварин, від яких відібрали кров та отримали сироватку	Ін. № проби	Титри антитіл, виявлені різними методами			
			ІРТ S/P % (в ІФА)	ІРТ (в РНГА)	ВД S/P (в ІФА)	ПГ-3 (в РЗГА)
1	Мурчаки	1	286	1:16	1,93	1:320
2		2	286	1:16	2,6	1:640
3		3	286	1:16	2,7	1:640
4		4	286	1:32	2,5	1:640
5		5	286	1:64	1,9	1:320
6	ВРХ	1	286	1:16	0,6	1:320
7		2	286	1:16	0,7	1:320
8		3	286	1:16	2,5	1:160
9		4	286	1:16	2,5	1:160
10		5	286	1:32	2,2	1:160
11		6	286	1:32	2,2	1:160
12		7	286	1:16	1,9	1:640
13		8	286	1:128	1,9	1:160
14		9	286	1:128	1,9	1:2560
15		10	286	1:16	2	1:320
16		11	286	1:16	2,3	1:640
17		12	286	1:32	2,1	1:1280
18		13	286	1:128	1,2	1:320
19		14	286	1:128	1,2	1:320
20		15	286	1:16	1,8	1:320

Отримані результати свідчать про високу антигенну активність вакцини. У пробах сироватки крові усіх тварин виявлено високий рівень антитіл до кожного з вірусів: ІРТ, ПГ-3 та ВД ВРХ.

Результат щодо титру антитіл специфічних до вірусу ІРТ підтверджено двома різними методами.

Одним із показників безпечності вакцини є повнота інактивації виробничих штамів вірусів. Для випробування зразок вакцини у стерильних умовах центрифугували 25 хв. за 4000 об/хв. для відокремлення вірусної маси від ад'юванту, стерильною піпеткою відбирали надосад, котрий використовують для визначення повноти інактивації. Повнота інактивації вірусу оцінювалась за відсутністю його розмноження у чутливій культурі клітин впродовж трьох пасажів. Формалін, який містився у зразку вакцини, нейтралізували 1,6 М розчином метабісульфіту натрію у співвідношенні 1:50. Наявність вірусу визначали за його цитопатогенною дією в культурі клітин. Впродовж трьох послідовних пасажів ознак цитопатогенної дії вірусу в культурах клітин не спостерігали, що свідчить про повну інактивацію виробничих штамів вірусів.

Вміст вільного формальдегіду у вакцині становить 0,01 %, що відповідає вимогам Державної фармакопеї України.

В И С Н О В К И

1. За дослідженими показниками якості «Вакцина інактивована проти інфекційного ринотрахеїту, парагрипу-3 та вірусної діареї великої рогатої худоби «БОВІСВАК-3», серії №1Е, виготовлена у березні 2014 року ТОВ «НДП Ветеринарні біотехнології» відповідає вимогам інструкції по виготовленню та контролю якості вакцини та вимогам реєстраційного досьє.

2. За результатами випробувань та рішенням Державної фармакологічної комісії, вакцину зареєстровано в Україні: РП № ВВ-00690-02-14.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження будуть стосуватися підтвердження клінічної ефективності вакцини.

NEW VACCINE AGAINST INFECTIOUS RHINOTRACHEITIS, PARAINFLUENZA-3 AND BOVINE VIRAL DIARRHEA

O. O. Napnenko

State Scientific-Control Institute of Biotechnology and Strains of Microorganisms

S U M M A R Y

The article highlights the results of trials commission "inactivated vaccines against infectious rhino-tracheitis, parainfluenza-3 and bovine viral diarrhea "BOVISVAK 3" developed by research by the research enterprise «Veterinary Biotechnology», Ltd. The test was performed according to the prevailing regulations in Ukraine related to production and quality control of veterinary immune-biological drugs methodology reviewed and approved the scientific and methodical commission SSCIBSM. Test results indicate a high antigenic activity and safety of a new vaccine, which is confirmed by laboratory tests and in terms of economy. Based on these results vaccine registered in Ukraine and can be used for vaccination of cattle.

НОВАЯ ВАКЦИНА ПРОТИВ ИНФЕКЦИОННОГО РИНОТРАХЕИТА, ПАРАГРИППА-3 И ВИРУСНОЙ ДИАРЕИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

A. A. Napnenko

Государственный научно-контрольный институт биотехнологии и штаммов микроорганизмов

А Н Н О Т А Ц И Я

В статье освещены результаты комиссионных испытаний «Вакцины инаktivированной против инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3 и вирусной диареи крупного рогатого скота «БОВИСВАК-3», разработанной научно-исследовательским предприятием ООО «НИП Ветеринарные биотехнологии». Испытания выполняли согласно действующих в Украине нормативных документов, касающихся производства и контроля качества ветеринарных иммунобиологических средств по методике рассмотренной и одобренной научно-методической комиссией ГНКИБШМ. Результаты испытаний свидетельствуют о высокой антигенной активности и безопасности новой вакцины, что подтверждено лабораторными исследованиями и в условиях хозяйства. На основании полученных результатов вакцина зарегистрирована в Украине и может быть использована для прививки крупного рогатого скота.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. *Красочко П. А.* Моно- и ассоциированные вирусные инфекции КРС: автореферат дисс. на соискание науч. степени доктора вет. наук: спец. 16.00.03 «Ветеринарная эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология» / П. А. Красочко. — Минск. 1997. — 32 с.

2. *Мищенко В. А.* Особенности массовых ассоциированных респираторных заболеваний взрослого крупного рогатого скота / В. А. Мищенко, В. В. Думова, О. Ю. Черных // Ветеринария Кубани. — 2011. — № 3. — С. 13–15.
3. Особенности массовых заболеваний крупного рогатого скота мясных пород / В. А. Мищенко, [и др.] // Ветеринария Кубани. — 2011. — № 2. — С. 6–7.
4. *Волосянко О. В.* Етіопатогенез вірусних респіраторних захворювань молодняка великої рогатої худоби / О. В. Волосянко, В.Ю Кассич // Науч. тр. Крым. гос. аграр. ун-та. — Симферополь, 2000. — Вып. 64: Ветеринарные науки. — С. 126–131.
5. *Волосянко Е. В.* Эпизоотологические особенности и распространение инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини: зб. наук. праць (присвяч. 150-річчю від дня заснування Харківської державної зооветеринарної академії). — Вип. 9 (33), ч. 1. — 2001. — С. 27 – 32.
6. Разработка иммунизирующего препарата против инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота / П. П.Фукс, [и др.] // Общая эпизоотология: иммунол., экол. и методол. проблемы.: материалы междунар. науч. конф., 20–22 сент. 1995 г./ ИЭКВМ. — Х., 1995. — С. 398–401.
7. *Годовський О. В.* Антигенна активність інактивованої вакцини проти вірусної діареї великої рогатої худоби при застосуванні на глибокотільних коровах / О. В. Годовський // Вет. медицина: міжвід. темат. наук. зб. — Х., — 2005. — Вип. 85, т. 1. — С. 289 – 293.
8. *Кучерявенко В. В.* Результати комісійного випробування вакцини інактивованої проти інфекційного ринотрахеїту, перпгрипу-3 та вірусної діареї великої рогатої худоби "Рипавак-3": / В. В. Кучерявенко, Р. О. Кучерявенко, О. В. Годовський // Вет. медицина: міжвід. темат. наук. зб. — Х., 2013. — Вип. 97. — С. 108–109.