

УДК 619.616.006.441.084

Г. А. ЗАВІРЮХА, кандидат сільськогосподарських наук
ДНУ «Державний центр інноваційних біотехнологій» м. Київ

ДОСЛІДЖЕННЯ НЕШКІДЛИВОСТІ ВАКЦИНИ «ЛЕЙКОЗАВ» ПРОТИ ЛЕЙКОЗУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ЗА ПОКАЗНИКАМИ ТОКСИЧНІСТЬ ТА СТЕРИЛЬНІСТЬ

У статті наведено результати досліджень вакцини «Лейкозав» проти лейкозу великої рогатої худоби згідно вимог ДСТУ 4483:2005 та ГСТУ 46.024-2002. В досліджах використовували білих мишей. Аналіз результатів досліджень показав, що досліджувана вакцина нешкідлива за показниками стерильність, токсичність і може застосовуватись для парентерального введення тваринам.

Ключові слова: лейкоз, вакцина, нешкідливість, токсичність стерильність.

Виробництво біологічних препаратів для парентерального введення тваринам вимагає ретельної уваги щодо їх якості. Розробники таких препаратів приділяють головну увагу нешкідливості, стерильності та достатній специфічній імуногенності.

Запропонована нами інактивована імуногенна вакцина «Лейкозав» проти лейкозу великої рогатої худоби є одним із перших таких біологічних препаратів, яка після щеплення формує специфічний противірусний імунітет з титром специфічних антитіл 2-4 Ig₂ за РІД. Як показали результати експериментальних досліджень, імунітет з такою напругою здатний захистити піддослідних тварин в умовах проведення експериментального зараження вірусомісним матеріалом (кров, гомогенату лімфатичних вузлів гематологічно хворої на лейкоз ВРХ) та під час перебування здорових тварин в неблагополучному щодо лейкозу господарстві з високим (>50 %) відсотком інфікованого поголів'я. Профілактичне щеплення самок з 4-5-місячного віку, телиць, нетелей, корів забезпечує їх захист від спонтанного зараження патогенним вірусом лейкозу. Крім того, кількість хворих тварин у продормальній стадії розвитку хвороби, після дворазового щеплення з інтервалом 6 місяців на 70 % стають РІД-негативними. Вакциновані тварини звільняються від вірусу, під впливом якого постійно формуються специфічні антитіла, що беруть участь у формуванні реакції імунодифузії [1,2 3,4].

Нижче наведено результати досліджень експериментальної серії вакцини «Лейкозав», як нешкідливого препарату придатного для застосування у лабораторних та в умовах епізоотологічного експерименту науково-дослідних роботах.

Мета проведеної роботи – використати основні загально прийняті вимоги щодо визначення нешкідливості вакцини «Лейкозав» та провести бактеріологічні дослідження на стерильність.

Матеріали і методи дослідження. Для проведення досліджень було взято експериментальну вакцину «Лейкозав», виготовлену із нативної периферійної венозної крові гематологічно хворої корови для проведення лабораторних досліджень та профілактичного захисту піддослідних тварин в умовах епізоотологічного експерименту (неблагополучного щодо лейкозу господарства). Визначення нешкідливості проводили за вимогами ГОСТУ 46.024-2002, визначенням бактеріальної і грибною контамінації за ДСТУ 4483:2005 [5,6,7,8].

Дослідження проводили на клінічно здорових білих лабораторних мишах. Перед початком досліджень кожну тварину зважили і сформували групи аналогів по 10 голів (дослідна і контрольна група) масою по 19-21 г і помістили в окремі клітки на 6 діб (карантин), забезпечивши їх збалансованим раціоном та доброякісною питною водою. У приміщенні, де перебували тварини підтримувалась температура 24⁰С.

Проведення досліджень. Вакцина «Лейкозав» є рідина темно-коричневого кольору, розфасована у флакони по 8 см³, без видимого осаду на дні, готова до застосування. Перед застосуванням флакон з вакциною струшують.

Для визначення токсичності препарату у дослід було взято три флакони вакцини «Лейкозав», вміст яких змішали, виготовивши об'єднану пробу. Флакон з об'єднаною пробую підігріли до 37⁰С і ввели у хвостову вену кожній піддослідній миші по 0,5 см³ з швидкістю витоку 0,1 см³/сек. Контрольній групі тварин вводили за такою ж методикою фізіологічний розчин. Препарат вводили в організм досліджуваних тварин у один і той же час доби. Під час проведення ін'єкцій дотримувались вимог правил асептики і антисептики.

За піддослідними і контрольними тваринами вели спостереження впродовж 48 годин. Всі тварини були активні, сприймали корм і воду. На місці введення була відсутня видима реакція організму на вакцину (почервоніння, набряк, припухлість, місцева температура). Загибелі тварин не було. Ознак щодо погіршення здоров'я не виявлено.

Для дослідження маси тіла експериментальних тварин після введення вакцини «Лейкозав» були сформовані 2 групи білих мишей обох статей, дослідна і контрольна. В кожній групі 5 самиць і 5 самців.

З об'єднаної проби вакцини «Лейкозав» дослідній групі тварин вводили 0,2 мл/ на тварину препарату. Контрольній групі вводили стерильний фізіологічний розчин по 0,2 мл/ на тварину. Препарат та стерильний фізіологічний розчин вводили підшкірно, одноразово. Зважування тварин проводили через 3, 7, та 14 днів після введення вакцини «Лейкозав» та реєстрували масу білих мишей (г). Результати спостереження представлені в таблиці 1.

Таблиця 1.

**Динаміка маси тіла білих мишей (г) після введення вакцини «Лейкозав»
в дозі 0,2 мл/ на тварину (M±m; n=5)**

Дослідна група	Стать тварини	Доза мл/тварини	Вихідні дані	Дні після введення вакцини		
				3	7	14
1. Дослід - вакцина «Лейкозав»	самці	0,2	21,06±0,25	20,48±0,22*	21,52±0,41*	22,74±0,36**
2. Контрольна-фізіологічний розчин		0,2	21,30±0,31	20,90±0,10*	22,03±0,13***	23,02±0,31
Різниця між 1 та 2 групами			p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
3. Дослід - вакцина «Лейкозав»	самиці	0,2	19,67±0,15	20,41±0,08***	21,52±0,67**	22,75±0,22
4. Контрольна-фізіологічний розчин		0,2	19,68±0,15	20,48±0,22*	22,03±0,36	23,01±0,21
Різниця між 3 та 4 групами			p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001 достовірно по відношенню до вихідних даних.

З таблиці 1. видно, що введення вакцини «Лейкозав» білим мишам обох статей не впливає на зміни маси тіла у порівнянні з контрольною групою. Тварини обох груп набирали вагу, були активними.

Отже вакцина «Лейкозав» нешкідлива, нетоксична, відповідає вимогам ГСТУ 46.024.-2002 і може застосовуватись за призначенням.

Головною вимогою відносно нешкідливості біологічного препарату, особливо для парентерального застосування, є дослідження на стерильність [7,8,9].

Суть методу полягає у виявленні живих бактерій і грибів у досліджуваному біологічному препараті з висіванням його в (на) середовища та вирощуванні мікробів за оптимальних для них температур [7].

У випадку виявлення росту мікробів у посівах результат не стерильності розповсюджується на весь об'єм виготовленого препарату. Вакцина «Лейкозав» є біологічним інактивованим препаратом, під час виготовлення якого не використовуються живі мікроби та антибіотичні препарати. Тому контамінація може відбутися лише під час розфасування у флакони. Мікросерія вакцини складала 150 ємностей. Згідно вимог п. 8.1.3 ДСТУ 4483:2005 відібрано три ємності для бактеріологічного дослідження [7].

Для висіву брали Тіогліколеве середовище (ТГС) розлите у пробірки по 10 см³. У кожену пробірку з ТГС засівали по 1 см³ досліджуваного препарату (співвідношення 1:10).

Ознакою нестерильності є ріст бактерій або грибів у посівах, які культивують в термостатівпродовж 14 діб. Половину засіяних пробірок культивували за температури 37⁰С (30⁰С-35⁰С) іншу 24⁰С (20⁰С-25⁰С).

Ріст мікрофлори в посівах виявляють за ознакою зміни кольору резауріну (з рожевого він стає безколірним). Поряд з засіяними пробірками ставлять декілька незасіяних пробірок для контролю середовища. Наявність росту мікрофлори підтверджують мікроскопією мазків виготовлених з декількох пробірок та пофарбованих за Грамом.

В засіяних зразках не виявлено росту бактерій та грибів, зміни кольору резауріну не було відмічено. Контрольні пробірки з ТГС не мали помутніння, осаду, зміни кольору резауріну.

Висновки.

1. Досліджена вакцина «Лейкозав» - стерильна, відповідає вимогам ДСТУ: 4483:2005.
2. Препарат нешкідливий, нетоксичний, відповідає вимогам ГСТУ46.024-2002.

Список використаної літератури

1. *Завірюха Г. А.* Профілактична імунізація корів вакциною Лейкозав – основа оздоровлення та активної боротьби з лейкозом великої рогатої худоби / Г. А.Завірюха // *Вет. Біотехнологія: Бюл. / УААН. Ін-т вет. медицини.* - К.:Дорадо - Друк, 2009.- №14.- С.103-111.
2. *Завірюха Г. А.* Вплив вакцини «Лейкозав» на організм хворих лейкозом корів на різних стадіях розвитку інфекції / Г. А.Завірюха, С. М. Дзюба, А. І. Завірюха// *Вет. Біотехнологія: Бюл.- УААН. Ін-т вет. медицини.* - К.:Аграрна наука, 2004.-№5.- С.23-33.
3. *Завірюха Г. А.* Профілактичні та протипухлинні властивості вакцини «Лейкозав» / Г. А. Завірюха // *Ветеринарна медицина України Міжвід. темат. наук. збірник.-Вип.96.- Харків, 2012.- с.157-158.*
4. *Завірюха Г. А.* Ефективність профілактичних щеплень худоби вакциною «Лейкозав» в боротьбі з лейкозом великої рогатої худоби/ Г. А.Завірюха // *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини и та біотехнології ім. С. З. Гжицького.– Том 14, № 3 (53) ч.1.- Львів, 2012 – с. 55-58.*
5. Препарати ветеринарні. Визначення нешкідливості. ГОСТУ 46.024-2002.– 14 с.
6. Біологічні випробування. Аномальна токсичність//Державна фармакопея України.–Харків.–2001.– вид. 1.– С. 109.
7. Препарати ветеринарні імунобіологічні.: Методи визначення бактеріальної і грибної контамінації. ДСТУ 4483:2005. – Київ. – Держспоживстандарт України. – 2006. –19 с.
8. ManualofStandardsforDiagnosticTestandVaccines/OfficeInternationaldesepi-otic (OIE), Ch. 1.1.4 Testforsterilityand freedom from contamination of biological materialis//2000. – P. 24-31.
9. European Pharmacopoeia//Ch. 2.6.1 biological tests. – 2001. – P. 73-79.

ИССЛЕДОВАНИЕ БЕЗВРЕДНОСТИ ВАКЦИНЫ «ЛЕЙКОЗАВ» ПРОТИВ ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ЗА ПОКАЗАТЕЛЯМИ ТОКСИЧНОСТЬ И СТЕРИЛЬНОСТЬ /

А. А.Завирюха,

В статье представлены результаты исследования вакцины «Лейкозав» против лейкоза крупного рогатого скота согласно требований ДСТУ 4483:2005 и ГСТУ 46.024-2002. В экспериментах использовали белых мышей. Анализ результатов исследований показал, что исследуемая вакцина безвредна за показателями стерильность, токсичность и может применяться для парентерального введения животным.

Ключевые слова: лейкоз, вакцина, безвредность, токсичность стерильность.

VACCINE RESEARCH HARMLESSNESS "LEYKOZAV" AGAINST LEUKEMIA CATTLE FOR PERFORMANCE TOXICITY AND STERILNIST/
Zaviriuha G. A

The results of vaccine studies "Leykozav" against bovine leukemia according to the requirements of State Standard of Ukraine 4483:2005 and Company Industry standard of Ukraine 46.024-2002. In experiments using white mice. Analysis of the results of research showed that studied the vaccine is harmless in terms of sterility, toxicity and can be used for parenteral administration to animals.

Keywords: leukemia, vaccine, harmless, toxicity, sterility.

Рецензент – кандидат біологічних наук П. Ю. Ліпський.

Рукопис надійшов 18. 07. 2013р