

ОРАЛЬНАЯ ИММУНОПРОФИЛАКТИКА БЕШЕНСТВА ВАКЦИНОЙ «БРОВАРИС VRG» В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ

Нычик С.А.

Харьковская государственная зооветеринарная академия

Солодчук В.Л.

Государственный научно-контрольный институт биотехнологии
и штаммов микроорганизмов, г. Киев

В статье приводятся результаты исследований относительно оральной иммунопрофилактики бешенства вакциной «Броварис VRG» в современных условиях.

Бешенство — зоонозно вирусное заболевание, которое вызывает острый энцефалит у домашних и диких животных.

Одной из наиболее важных составляющих проблемы контроля бешенства — есть специфическая профилактика, особенно среди диких животных, которым индивидуальное применение вакцин невозможно. В связи с этим тяжело переоценить достижения в области оральной иммунизации диких плотоядных животных, которая была предложена в конце 70-х годов прошлого века. Опыт, полученный за время внедрения оральной иммунизации, свидетельствует о её эффективности при ликвидации бешенства даже в условиях увеличения популяции диких животных, если проводится их вакцинация на протяжении нескольких лет (Aubert M.T., 1999).

В последнее время эпизоотическая ситуация в отношении бешенства усложняется увеличением роли диких животных в распространении заболевания, среди которых лиса занимает ведущее место, особенно в странах Европы, в том числе и в Украине. Анализируя проблему так называемой «европейской модели» рабической инфекции, Макаров В.В. (2002) также связывает увеличение за последнее десятилетие на территории постсоветских стран количества неблагополучных пунктов с расширением ореола диких животных, особенно лисиц, которых считают хозяином-резервуаром и переносчиком инфекции.

Достижения в области клонирования и экспрессии генов привели к созданию рекомбинантных вакцин против бешенства с использованием в качестве вектора вируса основовакцины, вируса оспы канареек, енота полоскуна, единовируса человека типа 5. Эти вакцины устойчивы во внешней среде, и при этом индуцируют напряженный иммунитет.

Цель. Учитывая большую актуальность вопроса и мировой опыт борьбы с бешенством на предприятии Укрветпромснаб г. Бровары, Киевской области, Украина, организовано производство пероральной вакцины для диких плотоядных животных — «Броварабисной V-RG» — вакцины, которая содержит рекомбинированный штам вируса осповакцины с G — геном вируса бешенства 10⁵ ССІD50

Модель создания и действия в организме V-RG

Данная вакцина создана как оральный антиген с использованием вектора вируса оспы.

Продемонстрировать действие вакцины можно таким образом:

1. Берется вирус оспы, из которого удаляют частичку ДНК.
2. Вместо удаленного участка ДНК вводят копию с ДНК гена гликопротеина бешенства путем рекомбинации.
3. Таким образом, получается рекомбинантный вирус.
4. Когда рекомбинантный вирус попадает внутрь организма животного (в клетки), где происходит синтез гликопротеина, который выходит через клетку — это есть продукт рекомбинантного вируса.
5. Когда вирус попадает на поверхность клетки, лимфоциты начинают сразу вырабатывать антитела.
6. Когда в организм попадает вирус бешенства, антитела прикрепляются к гликопротеину и нейтрализуют сам вирус

С целью объективного анализа оральных вакцин для профилактики бешенства в странах ЕС необходимо учитывать следующие данные:

Таблица 1 – Основные характеристики пероральных антирабических вакцин, используемых в ЕС (данные взяты у производителей и в EMEA)

Вакцина	VRG	SAG2	SADB12	SAD P5'88
Торговая марка	Раборал	Рабиген	Фушорал	Рабифокс
Компания	Мерил	Вирбак	идт	идт
КАЧЕСТВО				
Титр вакцины	>8 logio TCID ₅₀ /дозу	>8 logio TCID ₅₀ /дозу	7 logioFFU/мл	7 logio FFU/мл
Термостабильность, титр вируса	Стабильная (деталей про время и температуру нет)	Уменьшение на 0,16 logio после 2 дней при 25°C	Уменьшение на 0,4 logio после 7 дней при приблизительно 25°C	Уменьшение на 0,26 logio после 7 дней при приблизительно 25°C
Точка плавления оболочки приманки	>50°C	43°C	35°C (новая оболочка приманки в газработке)	35°C (новая приманки в газработке)
БЕЗОПАСНОСТЬ				
Протестованные нецелевые виды	52	Приблизительно 30	Приблизительно 20	Приблизительно 15
Тестованная горизонтальная трансмиссия	Не у одной из лисиц (взрослые и лисят), собак, котов, рогатого скота, хорь.	Не у одной из лисиц, можно выявить в слюнистых железах молодых собак	Не у одной из лисиц, грызунов, скунсов и собак	Не у одной (нет информации по видам)
Нет реверси к вирулентности после	7 бекпассажей на мышах (интрацеребрально и в лапу). 10 бекпассажей в клеточные культуры чехо, 1 бекпассажа на лисиц	5 бекпассажей на подсосных мышах	5 пассажей на лисицах и 10 пассажей на подсосных мышах	10 пассажей на подсосных мышах
АКТИВНОСТЬ				
Наименьшая проверенная на защиту доза	10 ⁷ ТСШ ₅₀ /доза	10 ⁴ ТСЮ/доза..	KFlog ₀ FFU/мл	10 ⁴ logio FFU/мл

TCID: инфекционная доза культуры клетки, FFU: фокус формирующей единицы, MEA: Европейское Агентство Оценки лекарственных препаратов.

Рассматривалось три категории пероральных вакцин против бешенства, поскольку их происхождение объясняет разницу их остаточной патогенности:

SAG-1 и SAG-2 были разработаны со штамма SAD Bern после двух последовательных мутаций кодона Arginin 333, соответственно. Любые изменения в этом кодоне приводят к значительной потере вирусной патогенности.

SAD B19 и SAD P5/88 были изготовлены со штамма SAD Bern путём ослабления после нескольких пассажей в культуре клеток.

VRG - содержит рекомбинантный штамм вируса осповакцин с G - геном вируса бешенства 10s CCID 50.

Экспериментально установлено, что для вакцинации красной лисицы, используя приманку, вакцина должна быть приблизительно в 10 раз более сконцентрированной, чтобы получить тот самый результат защиты что и при вакцинации прямым пероральным вливанием по капле.

Следующей нашей задачей было сравнить преимущества двукратной или однократной пероральной вакцинации. Опытным путём установлено, что принципиальной разницы при иммунизации взрослых молодых лисиц не было при однократной и двукратной иммунизации с интервалом 35 дней одной из двух вакцин (VRG или SAG2). Исходя из этого можно сделать вывод что никакой иммунологической необходимости для проведения двойной вакцинации нет.

Установлено, что лисята 4-5 недельного возраста реагируют на изменения сроков пероральной вакцинации VRG или ослабленными вирусами бешенства (SAG2 и SAD B19) в зависимости от наличия материнского иммунитета. При рождении от невакцинированных самок или от самок, вакцинированных с VRG, у лисят вырабатывается полный защитный иммунитет против смерти от бешенства. Лисята, рождённые от самок вакцинированных SAG2 и которые вакцинированные с SAG2 имели меньший титр вирус нейтрализующих антител после вакцинации, чем лисята, вакцинированные с VRG. Кроме того, они были менее защищены от бешенства. Результаты показали, что VRG лучше способен одолеть эффект материнского иммунитета, чем другие вакцины.

Как известно, требования ВООЗ в вопросе безопасности вакцин для перорального применения распространяются на целевые разновидности (красная лиса) и для нецелевых разновидностей (дикие плотоядные и разнообразные грызуны). В таблице 2 приведены результаты остаточной патогенности этих вакцин.

Таблица 2 — Результаты безопасности вакцин VRG, SAG2, SAD B19 при испытании на целевых и нецелевых видах животных (информация с отчётов ВООЗ)

Вакцины	Плотоядные	Грызуны	Мыши с угнетённым иммунитетом	Приматы
VRG	Нет патогенности	Нет смертности	Нет смертности у 40 мышей SCID (10^9 TCID ₅₀)	Нет патогенности для 11 шимпанзе (10^8 PFU/мл) 24 обычных саймири (10^8 PFU/мл) (Rupprecht и др., 1992)
SAG2	Нет патогенности	Нет смертности	Нет смертности у 10 мышей SCID (10^9 TCID ₅₀)	Нет патогенности для 10 бабуинов, (10^9 PFU/мл) (Bingham и др., 1997)

SADB19	Нет патогенности у нескольких разновидностей. Птогенный для скунса в высоких 10^9 FFU (Rupprecht и др., 1990, Vosn др., 2002)	До 6% смертности у нескольких европейских видов диких животных (Artois и др., Vosb и др., 1999)	Нет смертности у 10 мышей SCID (10^{74} FFU) смертность у 2/10 голых мышей (10^{73} FFU)	Нет патогенности для 12 бабуинов (10^8 FFU) (Vos и др., 1999)
--------	---	---	--	--

SCID – инфекционная доза культуры ткани; FFU – фокус формирующей единицы; PFU – точка формирования единицы; SCID – строго комбинированные мыши с иммунодефицитом.

Термостабильность вирусов пероральных вакцин – один из основных показателей, которые гарантируют успех вакцинации. Вакцинные вирусы (живые модифицированные или рекомбинантные) являются саморепликующимися, что не совсем безопасно: так как могут рассматриваться как потенциальный биологически опасный мусор. В связи с этим неоднократно проводился контроль поедаемости вакцин и установлено, что более 90% вакцинных приманок исчезают в течении 7 дней после раскладывания на местности. Что свидетельствует о положительном решении затронутой выше проблемы.

Не маловажным аспектом изучения пероральной вакцинации есть наблюдение на местности. При практическом использовании все ранее проверенные вакцины (VRG, SAG2, SAD B19, SAD P5/88) были эффективны при ликвидации бешенства на больших Европейских территориях. Стабильность вакцины как и приманки является важным критерием для эффективности пероральной вакцинации. Полевые наблюдения обеспечили и прямое и косвенное свидетельство того, что эффективность на местности также зависит от дозы вакцины (вирусный титр), от стабильности вакцинного титра и от стабильности оболочки приманки.

Экспертный комитет по бешенству ВООЗ считает, что при оценке эффективности пероральной вакцинации необходимо учитывать следующие показатели:

- 1) определение биомаркера (чаще тетрациклин), который входит в приманку для целевых видов;
- 2) исследование сывороток целевых видов на нейтрализующие вирус бешенства антитела;
- 3) анализ случаев бешенства у животных перед, во время и после программы пероральной вакцинации.

Используя ослабленные вакцины и вакцины, полученные из вируса оспы, необходимо учитывать возможный контакт людей с ослабленным иммунитетом с такими вакцинами. При этом необходимо строгое соблюдение правил техники безопасности.

В качестве биомаркера при изготовлении «Броварабис VRG» в приманку вводится тетрациклин. Тетрациклин рекомендован ВООЗ как маркер при использовании приманок и обеспечивает продолжительное маркирование костей и зубов, которое легко можно определить и после смерти. Это безопасно как для целевых видов, так и для нецелевых видов животных. Экспертиза тетрациклина облегчает эпизоотический контроль за бешенством на территориях свободных от заболевания и где вакцинация больше не применяется.

Таким образом, для профилактики бешенства среди диких плотоядных необходимо: во-первых: широко применять метод оральной иммунизации с применением антирабической вакцины «Броварабис VRG»;

во-вторых: постоянно определять наличие биомаркера и проводить исследование сывороток крови целевых видов животных;

в-третьих: тщательного проведения эпизоотического мониторинга изучаемых территорий.

Список литературы

1. Rabies: Guidelines for Medical Professionals, Trenton, USA, 1999. — P. 80. 2. Rabies bulletin Europe. Volum 28 No 4 Quarter 4 2004. 3. Головки, А.М., Блоцька, О.Ф., Романенко О.А. Антирабійні вакцини: вчора, сьогодні, завтра // Матеріали II міжнародного конгресу спеціалістів ветеринарної медицини, 3-4 серпня 2004 р. — Київ. — 2004. С. — 79-80. 4. Laboratory techniques in rabies. 4th edition, WHO, Geneva, 1996, 470 p. 5. OIE Manual of Standards of Diagnostic Tests and Vaccines. 5th Edition, 2004

ORAL IMMUNOPROPHYLAXIS OF RABIES BY VACCINE «BROVARIS VRG» IN MODERN CONDITIONS

Nychyk S.A.

Kharkiv State Zooveterinary Academy

Solodchuk V.L.

State Scientific Control Institute of Biotechnology and Strains of Microorganisms, Kiev

Information concerning advantage of oral immunoprophylaxis of rabies by vaccine «Brovaris VRG» in modern conditions is presented in the paper.

УДК 619:579.887.111:616-078:636.2

ПРИЖИТТЄВА ДІАГНОСТИКА МІКОПЛАЗМОЗУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ РІЗНИХ СХЕМ ПІДГОТУВАННЯ ПРОБ ПАТОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ

Орлов С.М., Обуховська О.В., Глебова К.В.

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

Доведено, що найефективнішим при проведенні досліджень проб патологічного матеріалу від ВРХ на мікоплазмоз було використання транспортного середовища з додаванням пеніциліну, стрептоміцину та ністатину. Одно разове або дворазове замороження проб патологічного матеріалу не призводить до інгібіції супроводжувальної мікрофлори але й не пригнічує росту мікоплазм. Найефективнішою визнана схема з використанням одностодової інкубації проби у транспортному середовищі з послідовним пересівом на діагностичні середовища.

За останній час в Україні та інших країнах СНД при диференційній діагностиці змішаних інфекцій великої рогатої худоби в господарствах виявляються стаціонарно неблагополучні стада з однією або двома-трьома інфекційними хворобами вірус-бактерійної етіології (ІРТ-ВД, ІРТ-ВД-мікоплазмоз та ін.). Близько чверті досліджуваних тварин (від 3,5 до 34,4 %) [1, 2, 3] є мікоплазманосіями, за умов дії стрес-факторів (порушення умов годівлі й утримання тварин) така форма перебігу інфекції ускладнюється вірусною або бактеріальною мікрофлорою. В таких випадках реєструють нетипову клінічну картину, що значно ускладнює первинну діагностику і призводить до помилкових рішень у призначенні терапевтичних заходів. Усе це спричиняє зниження продуктивності, безпліддя та, як наслідок, передчасну вибраковку тварин.

Особливості будови клітини мікоплазм, зокрема, відсутність клітинної стінки, зумовлюють низький рівень життєздатності цих мікроорганізмів у зовнішньому середовищі. Особливу проблему складає процес зберігання збудника в пробах патологічного матеріалу, який доставляється до діагностичного закладу [4, 5]. Забій дрібних тварин і відбір проб патологічного матеріалу здійснюється безпосе-